АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯИСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXI. ВЫП. 4

ИЮЛЬ — АВГУСТ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1952

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
12 NOV 1952

МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров, В. Н. Шапошников

*ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ»
ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, Б. ЧЕРКАССКИЙ ПЕР., 2
КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»*

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Волхонка, 14, Издательство Академии Наук СССР,
редакция журнала «Микробиология»

ОТ РЕДАКЦИИ

Гениальная работа товарища Сталина «Марксизм и вопросы языкознания» оказала огромное благотворное влияние на развитие всех отраслей советской науки. Для советских ученых стало очевидным, что одним из основных методов, обеспечивающих правильное разрешение всех принципиальной важности вопросов любой отрасли науки, является метод критики и самокритики.

Из указания товарища Сталина, что «никакая наука не может развиваться и преуспевать без борьбы мнений, без свободы критики», явствует, что свободные дискуссии и широкие обсуждения разнообразных вопросов должны стать основным, постоянно действующим методом в нашей повседневной работе.

В микробиологии, как и в других разделах биологической науки, имеется много вопросов, требующих всестороннего рассмотрения и критического обсуждения.

В выпуске № 2 нашего журнала за 1951 г. была открыта дискуссия по вопросу о принципах селекции микроорганизмов. По этому вопросу развернулась оживленная дискуссия — 14 товарищей выступили со своими критическими замечаниями.

В выпуске № 3 журнала «Микробиология» за 1952 г. помещена редакционная статья, подводящая итоги дискуссии по этому вопросу.

В целях дальнейшего развертывания дискуссий по актуальнейшим вопросам современной микробиологии редакция журнала «Микробиология» открывает дискуссию по проблеме вирусов и неклеточных форм у микроорганизмов.

Нет надобности доказывать огромное теоретическое и практическое значение этой проблемы.

Достаточно напомнить хотя бы о той большой роли, которую играют вирусы, вызывающие значительную часть всех инфекционных заболеваний человека, животных и растений. Проблема неклеточных форм микробов имеет важнейшее теоретическое значение для биологии, так как с этой проблемой связывают решение вопросов о происхождении жизни, о возможных формах существования живого и т. д. Общеизвестна выдающаяся роль отечественных ученых (Ивановского, Гамалея) в открытии вирусов и во всестороннем изучении их свойств. Исключительно важное значение для дальнейшего развития микробиологии в целом будет иметь теория развития клеточных и неклеточных форм живого вещества О. Б. Лепешинской.

Разработанные ею научные положения о развитии клеточных форм из клеточно-неорганизованного живого вещества открыли большие перспективы для многих разделов биологии, в том числе и микробиологии. Они послужили стимулом для развертывания работ по изучению неклеточных форм жизни, в частности и у микроорганизмов, и успешному разрешению ряда вопросов. Свидетельством этому является состоявшаяся 22—24 апреля 1952 г. в Москве конференция, посвященная проблеме развития клеточных и неклеточных форм живого вещества в свете теории О. Б. Лепешинской, организованная Академией медицинских наук и Отделением биологических наук Академии Наук СССР.

Открывая дискуссию по проблеме неклеточных форм у микробов статьей чл.-корр. АН СССР В. Л. Рыжкова на тему «Систематика вирусов в современной литературе», редакция журнала «Микробиология»

считает необходимым отметить, что рамки данной дискуссии не ограничиваются только вопросами систематики вирусов.

Обращаясь ко всем микробиологам и вирусологам с просьбой принять участие в дискуссии по проблеме неклеточных форм микробов, редакция просит высказаться по вопросам природы вирусов и фагов, возможных путях их происхождения и эволюции, о связи их с бактериями и т. д.

Особое внимание в дискуссии должно быть уделено выяснению значения и роли неклеточных форм в микробиологии и связи их с визуальными формами микроорганизмов.

Крайне желателен также обмен мнений по вопросу о границах клетки у микробов.

Редакция считает необходимым просить всех участников дискуссии как можно шире обосновывать развиваемые и поддерживаемые ими теоретические положения конкретными фактическими данными, проверенными практикой.

ЧАСТИЧНОЕ ОТВЛЕЧЕНИЕ ПРОДУКТОВ ФИКСАЦИИ МОЛЕКУЛЯРНОГО АЗОТА ИЗ КЛЕТОК АЗОТОБАКТЕРА В ПИТАТЕЛЬНУЮ СРЕДУ

М. В. Федоров

В начальной фазе процесса фиксации азотобактером молекулярного азота происходит, повидимому, взаимодействие между специфическим ферментом азотфиксации и молекулярным азотом [1, 2], в результате которого получаются первичные продукты фиксации, подвергающиеся дальнейшему восстановлению водородом. В качестве первичных продуктов образуются производные гидразина, которые в свою очередь превращаются в аминокислоты и идут на построение белковых веществ протоплазмы клеток азотобактера. Если такое предположение отвечает действительному ходу этого процесса, то мы получаем возможность вмешиваться в его течение и можем найти приемы частичного отвлечения продуктов фиксации из клеток азотобактера в питательную среду. Такое отвлечение должно произойти, например, при введении в субстрат соединений с ненасыщенной связью, энергично реагирующих с гидразинами. Подобная возможность была установлена нами еще четыре года назад [3] при постановке опытов с добавлением в субстрат уксусного альдегида малыми дозами. В присутствии этого соединения общая продуктивность азотфиксации осталась без изменений, но около половины фиксированного азота накопилось в растворе в форме органических азотистых соединений.

Такие же результаты были получены и в исследованиях, описываемых ниже. Они не только подтвердили возможность частичного отвлечения продуктов фиксации в питательную среду, но и дали материалы и для характеристики условий, при которых происходит такое отвлечение в наибольшей степени.

Опыты ставились на питательной среде с микроэлементами (наша модификация, [3]) в колбах Эрленмейера объемом на 750 мл. В каждую колбу наливалось 250 мл питательной среды с 4,5 г инвертного сахара. По окончании опыта среда подвергалась центрифугированию при 4000 оборотах в минуту. Азот определялся отдельно в клетках азотобактера и в растворе. Продолжительность опытов с Az. agile (температура 30°) варьировала от трех дней до месяца.

Большинство опытов было проведено с добавлением в среду органических соединений с ненасыщенной связью (главным образом органических кислот). Они служили как бы акцепторами для продуктов фиксации азота атмосферы и частично отвлекали их в питательный субстрат. В зависимости от химической активности использованного вещества и продолжительности опыта количество отвлеченного азота было весьма различным. Результаты первого опыта представлены в табл. 1.

Из приведенных данных легко установить, что ненасыщенные соединения не влияют на потребление сахара. Во всех случаях оно идет весьма энергично и не отстает от контроля. Только циклогексан оказался ядовитым и понизил расход сахара примерно наполовину. На этом основании следует полагать, что условия для развития азотобактера во всех вариантах опыта (кроме варианта с циклогексаном) были вполне

Таблица 1

Влияние ненасыщенных органических соединений на фиксацию азота атмосферы Azotob. agile и накопление фиксированного азота в растворе

Варианты опыта	Использовано сахара в г	Интенсивность использования сахара в %	Найдено фиксированного азота атмосферы в мг			Азот в растворе в % от общего колич.
			в растворе	в клетках азотобактера	всего в культуре	
Контроль на инв. сахаре	4,25 4,50	100,0	5,50 8,37	48,30 42,71	53,80 51,08	13,2
Инв. сахар + 0,2 моля пировиноградной к-ты	4,50 4,50	102,9	63,20 60,80	36,40 42,0	99,60 102,80	64,2
Инв. сахар + 0,1 моля аконитовой к-ты	4,50 4,50	102,9	55,44 53,12	51,52 55,80	106,96 108,92	50,3
Инв. сахар + 0,2 моля ацетона	4,50 4,50	102,9	22,68 17,70	26,60 46,79	49,28 64,46	35,5
Инв. сахар + 0,1 моля фумаровой к-ты	4,25 4,50	100,0	57,76 51,24	23,24 23,00	81,00 74,24	70,9
Инв. сахар + 0,1 моля циклогексана	2,38 1,50	44,3	9,60 7,01	18,20 15,37	27,80 22,38	33,1

удовлетворительными. В благоприятных условиях развития процессы автолиза клеток азотобактера не должны были происходить сколько-нибудь интенсивно, и не могли оказать значительного влияния на накопление азотистых веществ в растворе, тем более что в контроле сахар находился еще только на грани полного использования. Опыты вместе с тем показали, что в присутствии натриевых солей пировиноградной, аконитовой и фумаровой кислот более половины общего азота, фиксированного азотобактером из атмосферы, накопилось в растворе. Так как в присутствии циклогексана и ацетона накопление азота в растворе соответствовало только одной трети от его общего количества в культуре, а в контрольном варианте отвечало только одной восьмой части, то необходимо сделать заключение, что в присутствии органических кислот с ненасыщенной связью часть фиксированного азота действительно отвлекается в раствор, повидимому, еще до того, как азот может быть использован для синтеза азотистых веществ протоплазмы клеток азотобактера. Для понимания физиологического хода процесса фиксации эти данные представляют несомненно большой интерес.

Когда была установлена возможность частичного отвлечения продуктов фиксации из клеток азотобактера в субстрат за счет воздействия ненасыщенных соединений, возникла необходимость установить, могут ли такое же влияние оказать и органические соединения, не содержащие ненасыщенных связей, но окисляющиеся в актах дыхания через стадию ненасыщенных соединений. В качестве таких веществ были использованы хинная кислота, окисляющаяся по данным Буткевича через стадию протокатеховой кислоты и пирокатехина, т. е. через стадию веществ, имеющих ненасыщенные связи, и лимонная кислота, также дающая ненасыщенные соединения в процессе окисления. Опыт с добавлением этих соединений производился при тех же условиях, что и предыдущий, но продолжался 30 дней.

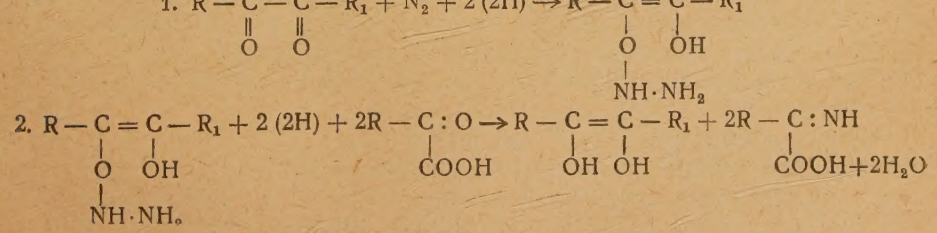
Более продолжительный срок был взят для того, чтобы установить, в какой мере скажутся процессы автолиза на распределении фиксированного азота между клетками азотобактера и питательным субстратом. Результаты опыта приводятся в табл. 2.

Таблица 2

Влияние некоторых органических кислот на фиксацию азота атмосферы Azotob. agile и накопление продуктов фиксации в среде

Варианты опыта	Использовано сахара в г	Интенсивность использования сахара в %	Найдено фиксированного азота атмосферы в мг			Азот в растворе в % от общего к-ва
			в растворе	в клетках азотобактера	всего в культуре	
Контроль на инв. сахаре	4,5 4,5	100,0	19,30 8,40	32,41 37,40	51,71 45,80	28,4
Инв. сахар + 0,2 моля хинной к-ты	4,4 4,5	100,0	82,14 75,60	23,10 49,36	105,24 124,96	68,5
Инв. сахар + 0,1 моля аконитовой к-ты	4,5 4,5	100,0	30,36 32,34	11,90 11,51	42,26 43,85	72,8
Инв. сахар + 0,1 моля лимонной к-ты	4,5 4,5	100,0	47,04 53,52	37,81 26,6	84,85 80,12	60,9
Инв. сахар + 0,1 моля фумаровой к-ты	4,5 4,5	100,0	43,02 40,56	23,99 23,18	67,01 63,74	63,9
Инв. сахар + 0,2 моля пировиноградной к-ты	4,5 4,5	100,0	43,74 24,42	24,54 27,00	68,28 51,42	56,9
Инв. сахар + 0,2 моля бензойной к-ты	4,5 4,5	100,0	55,74 51,17	48,68 47,00	104,42 98,17	52,7

Несмотря на более продолжительный срок опыта и полное потребление сахара из питательной среды, распределение азота между клетками азотобактера и раствором осталось почти без изменений. Во всех случаях (кроме контроля) более половины фиксированного азота было найдено в растворе в форме органических азотистых соединений. При этом хинная и лимонная кислота, хотя и не имели в первоначальном состоянии ненасыщенных связей, дали примерно такой же результат, что и кислоты с готовой ненасыщенной связью. Повидимому, такого рода связи действительно легко возникают при окислении этих кислот и отвлекают часть фиксированного азота. Однотипность результатов этих опытов позволяет далее считать, что в процессах дальнейшего превращения продуктов фиксации половина фиксированного азота идет на синтез белковых веществ азотобактера, а вторая половина отвлекается в раствор. Такое отвлечение можно было бы представить в форме следующего уравнения:



Получающиеся в ходе этого взаимодействия имидокислоты, повидимому, частью идут на синтез белка клеток азотобактера, а частью накапливаются в питательном субстрате. Количественное распределение фиксированного азота между клетками и субстратом зависит в этом случае только от наличия доступных источников углерода, идущих на синтез составных частей клетки и на связывание продуктов фиксации. Это положение легко подтвердить расчетами. В контроле на 2,25 г окисленного углерода, ассимилировано 45—50 мг атмосферного азота. Отношение между использованным углеродом и ассимилированным азотом равно 45 : 1. В вариантах же с хинной и бензойной кислотами на 5,5—6,5 г использованного углерода фиксировано 100—110 мг атмосферного азота. Отношение между окисленным углеродом и фиксированным азотом соответствует 58 : 1. В варианте с лимонной кислотой аналогичное отношение равно 57 : 1. Более высокое отношение между использованным углеродом и фиксированным азотом в вариантах с добавлением органических кислот указывает на частичное использование этих соединений для акцептирования азота в растворе.

Если принять продуктивность использования углерода для синтеза составных частей протоплазмы во всех случаях одинаковой, то можно подсчитать и примерный расход органических кислот, идущих на связывание продуктов фиксации и отвлечение их в раствор. Вот пример такого расчета для варианта с фумаровой кислотой. Расход углерода на 65 мг фиксированного азота должен был составить примерно 2,95 г. В среде же содержалось 3,45 г углерода. Отсюда следует, что около 0,5 г углерода из состава питательной среды было израсходовано на связывание 43 мг азота, найденного в растворе. Отношение между углеродом и азотом в растворе получается равным 10 : 1 и указывает на значительное содержание азота в составе накопившихся азотистых продуктов. Любопытно отметить, что ни в одном варианте опыта не удалось обнаружить заметных количеств аммиака. Только в некоторых вариантах проба на аммиак реактивом Несслера была слабо положительной. Очевидно, до тех пор пока углерод из среды не использован полностью, нет условий для накопления аммиака даже за счет процессов автолиза. Но так как в наших условиях постановки опыта более половины фиксированного азота все же накапливается в растворе в форме органических азотистых соединений, то приходится признать, что в присутствии ненасыщенных соединений азот накапливается в растворе за счет фиксации молекулярного азота азотобактером, а не за счет автолиза его клеток. Отсутствие среди накапливающихся азотистых веществ аммиака позволяет, далее, считать, что он, видимо, не является первичным продуктом фиксации. Усиленное накопление азота в растворе при наличии в среде органических соединений с ненасыщенной связью, способных реагировать с производными гидразина, позволяет признать, что именно гидразины могут быть вероятными первичными продуктами фиксаций молекулярного азота азотобактером. Поэтому результаты этих опытов могут служить дополнительным подтверждением правильности нашей гипотезы о первичном образовании гидразинов [4].

Для более точной ориентировки в существе наблюдаемых явлений и для установления твердой зависимости между наличием в среде ненасыщенных соединений и накоплением азота в растворе были поставлены опыты с натриевыми солями муравьиной и валериановой кислот, а также с двухзамещенным фосфорнокислым натрием. Опыты ставились при тех же условиях и продолжались 28 дней. Результаты их приводятся в табл. 3.

Цифровой материал этой таблицы не оставляет сомнений в том, что насыщенные жирные кислоты (валериановая кислота) ведут себя иначе, чем ненасыщенные кислоты, и особого влияния на накопление продуктов фиксации в растворе не оказывают. Фосфорнокислый натрий, соз-

Таблица 3

Влияние насыщенных жирных кислот на фиксацию азота атмосферы Azotob. agile и накопление продуктов фиксации в растворе

Варианты опыта	Использовано сахара в г	Интенсивность использования сахара в %	Найдено фиксированного азота атмосферы в мг			Азот в растворе в % от общего к-ва
			в растворе	в клетках азотобактера	всего в культуре	
0,1 моля инв. сахара	4,50 4,50	100,0	11,34 8,40	31,89 39,35	43,23 47,75	21,7
0,1 моля инв. сахара + 0,1 моля муравьиной к-ты	4,50 4,45	99,3	20,31 20,31	22,81 21,99	43,12 42,20	47,6
0,1 моля инв. сахара + 0,1 моля валериановой к-ты	4,50 4,50	100,0	6,49 12,32	29,86 28,24	36,35 40,56	24,4
0,1 моля инв. сахара + 0,1 моля Na_2HPO_4	4,40 4,25	96,1	14,20 14,21	36,78 37,31	50,98 51,52	27,7

дающий сильно щелочную реакцию в растворе с первых дней культуры, также не дал заметного стимулирования процессов автолиза и не привел к значительному повышению накопления азота в растворе. По-видимому, все дело связано именно с ненасыщенными соединениями. Если этих соединений нет или они медленно и в малом количестве возникают при окислении вещества, то нет и условий для усиленного накопления азота в растворе. Так, например, валериановая кислота, не подвергаясь в культурах азотобактера заметному окислению, не может служить материалом для образования ненасыщенных соединений и не может акцептировать продукты фиксации молекулярного азота. Поэтому в присутствии валериановой кислоты количество азота в растворе не только возрастает, но даже падает, хотя она и создает сильно щелочную реакцию в субстрате. Только муравьиная кислота действует иначе и заметно повышает содержание азота в растворе. Такое действие ее определяется, видимо, тем, что муравьиная кислота может выполнять функции, аналогичные с формальдегидом. Все это вместе взятое позволяет считать, что главная масса азотистых веществ обнаруживаемая в растворе в присутствии ненасыщенных соединений, имеет, видимо, первичное, происхождение.

Справедливость этого положения подтверждают и данные опыта с хинной и бензойной кислотами, в котором длительность культивирования варьировала от 7 до 28 дней. Если бы дело было связано только с накоплением продуктов автолиза в растворе, то чем дольше продолжался бы опыт, тем большее количество фиксированного азота должно было переходить в раствор. Однако данные, приведенные в табл. 4, такой закономерности не выявляют. После 14-го дня культивирования количество накапливающегося азота в растворе практически не возрастает. К этому времени заканчивается потребление сахара и фиксация азота, а потому отпадают и условия для дальнейшего накопления продуктов фиксации в растворе. Как только перестает нарастать общий азот в культуре, так прекращается и накопление азота в растворе. Все это говорит о том, что азот, обнаруживаемый в растворе в присутствии ненасыщенных соединений, имеет первичное происхождение. Вторичные процессы, связанные с автолизом клеток, имеют по крайней мере в ин-

тервале 30-дневного срока опыта подчиненное значение. Эти закономерности легко уясняются из данных табл. 4.

Таблица 4

Влияние хинной и бензойной кислот на фиксацию азота атмосферы и на накопление азота в растворе при разной продолжительности опыта

№ опыта	Вариант опыта	Потреблено сахара в г	Интенсивность использования сахара в %	Найдено фиксированного азота атмосферы в мг			Азот в растворе в % от общего количества	Азот на 1 г энергетического вещества
				в растворе	в клетках азотобактера	общее количество в культуре		
	0,1 моля инвертного сахара							
I	7 дней	4,50	100,0	11,48	30,69	42,17	27,2	9,38
	14 „	4,50	100,0	10,70	33,57	44,27	24,2	9,84
	21 „	4,50	100,0	11,34	31,89	43,23	25,5	9,61
	28 „	4,50	100,0	8,40	39,35	47,75	17,6	10,61
	0,1 моля хинной кислоты							
II	7 дней	0,0	0,0	17,38	14,10	31,48	55,2	7,43
	14 „	0,0	0,0	29,18	14,98	44,16	66,1	9,20
	21 „	0,0	0,0	27,44	16,28	43,72	62,7	9,11
	28 „	0,0	0,0	27,61	18,37	45,98	60,1	9,58
	0,1 моля инвертного сахара + 0,1 моля хинной кислоты							
III	7 дней	4,50	100,0	18,31	47,51	65,82	27,8	—
	14 „	4,50	100,0	24,57	48,31	72,88	33,7	—
	21 „	4,50	100,0	42,31	38,81	81,12	52,1	—
	28 „	4,50	100,0	40,74	38,69	79,43	51,3	—
	0,1 моля бензойной кислоты							
IV	7 дней	0,00	0,0	17,22	18,07	35,29	48,8	11,57
	14 „	0,00	0,0	30,31	19,75	50,06	60,6	16,41
	21 „	0,00	0,0	20,26	25,87	46,13	43,9	15,12
	28 „	0,00	0,0	21,77	20,99	42,76	50,9	14,02
	0,1 моля бензойной кислоты + 0,1 моля инвертного сахара							
V	7 дней	3,55	78,9	4,87	23,10	27,97	17,4	—
	14 „	4,50	100,0	17,01	30,00	47,01	36,2	—
	21 „	4,50	100,0	30,66	29,90	60,56	50,6	—
	28 „	4,50	100,0	24,57	49,00	73,57	33,4	—

Аналогичный опыт с использованием хинной кислоты в качестве единственного источника углерода был проведен с Azotob. agile с возрастающими сроками культивирования (табл. 5). В этом опыте для выяснения вопроса, имеет ли существенное значение катион, были взяты натриевые и кальциевые соли хинной кислоты. Результаты приводятся в табл. 5. Они оказались аналогичными предыдущим опытам. На натриевой соли хинной кислоты большое количество фиксированного азота накапливается в растворе, начиная с трехдневного срока опыта, т. е. с периода, когда энергетический материал еще далеко не использован. В дальнейшем же, по мере потребления энергетического материала,

количество фиксированного азота в культуре возрастает, а вместе с этим увеличивается и количество азота, накапливающегося в растворе. Все это указывает на обоснованность утверждения о действительном отвлечении фиксированного азота в раствор и о возможности образования гидразинов в качестве первичных продуктов фиксации. Однако такой результат получается только с натриевой солью хинной кислоты. При добавлении в субстрат кальциевой соли этой кислоты, хотя процесс и идет в том же направлении, однако количественный показатель накопления азотистых веществ в растворе очень невелик. В присутствии кальция процесс фиксации угнетается и отвлечение продуктов фиксации атмосферного азота, видимо, затрудняется.

Таблица 5

Влияние на фиксацию азота атмосферы Azotob. agile и накопление продуктов фиксации в растворе натриевых и кальциевых солей хинной кислоты

Продолжительность опыта в днях	Найдено фиксированного азота атмосферы в мг							
	на натриевой соли хинной кислоты				на кальциевой соли хинной кислоты			
	в растворе	в клетках азотобактера	всего в культуре	в растворе в % от общего азота	в растворе	в клетках азотобактера	всего в культуре	в растворе в % от общего азота
3	6,78	11,94	18,72	36,1	3,50	7,87	11,37	30,8
6	21,14	27,55	48,69	43,4	6,92	17,46	24,38	28,4
9	32,12	23,34	55,46	57,9	7,58	20,36	27,94	27,1
12	34,44	23,25	57,69	59,5	8,88	26,07	34,95	25,4
15	35,20	23,21	58,41	60,3	9,50	27,55	37,05	25,7
18	37,72	17,64	55,36	68,1	11,10	25,38	36,48	30,4
21	30,46	18,54	59,00	51,7	14,12	27,41	41,53	34,0
24	42,98	13,30	56,28	76,3	14,36	29,95	44,31	32,4
27	38,61	14,13	52,74	73,2	9,46	34,20	43,66	21,7
30	31,76	18,84	60,60	62,7	5,60	24,84	30,44	18,4

Из этих данных легко установить, что в присутствии кальциевой соли хинной кислоты количество азота в растворе не только не возрастает, а даже немного падает. Так как около 30% фиксированного азота при этом оказывается накопившимся в растворе с первых же дней опыта, то и в этом случае нет сомнений, что азот в растворе появляется за счет процесса фиксации молекулярного азота, а не в результате процессов автолиза. То же самое, но значительно отчетливее, получается с натриевой солью хинной кислоты.

Все вышеизложенное приводит нас как-будто к единственно возможному выводу: пользуясь готовыми ненасыщенными соединениями или же ненасыщенными соединениями, образующимися в процессе окисления органического вещества, мы можем часть фиксированного азота отвлечь в раствор, хотя общая продуктивность фиксации при этом и не повышается. Так как аммиак при этих условиях опыта не накапливается в растворе в заметном количестве, то приведенные данные могут служить доказательством правильности защищаемого нами положения, что он не является первичным продуктом фиксации азота атмосферы азотобактером. В качестве азотистых соединений, накапливающихся в больших количествах в растворе, обнаруживаются органические азотистые вещества, расшифровка химической природы которых будет дана в следующем сообщении. Здесь же можно только еще раз подчеркнуть, что в первых фазах процесса азотфиксации образуются, вероятно, гидразины, за счет взаимодействия которых с ненасыщенными соединениями и происходит накопление азота в растворе. Значительное накопление азоти-

стых веществ в субстрате отмечалось и другими исследователями (Roberg [5]), но характер процессов, приводящих к такому накоплению, оставался неясным. Приводимые нами данные не только разъясняют существо явления, но дают и базу для частичного управления этим процессом.

Выводы

1. В присутствии ненасыщенных соединений около половины фиксированного азота накапливается в растворе, а другая половина идет на построение белковых веществ протоплазмы клеток азотобактера.
2. Столь значительное накопление азота в растворе в присутствии ненасыщенных соединений подтверждает вероятность образования в качестве первичных продуктов фиксации производных гидразина.
3. Накапливающиеся азотистые вещества в растворе имеют органическую природу. Среди них обнаруживаются только следы аммиака. Характеристика химической природы этих соединений будет дана в следующем сообщении.

Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева

Получено 20.III.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Федоров М. Продуктивность фиксации азота атмосферы азотобактером на разных источниках углерода. Микробиология, XIV, 94, 1945.
2. Федоров М. Химизм фиксации азота атмосферы азотобактером. Микробиология, XV, вып. 6, 1946.
3. Федоров М. Биологическая фиксация азота атмосферы. Монография. Сельхозгиз, М., 1948.
4. Федоров М. Теория процесса фиксации молекулярного азота бактериями при участии специфического катализатора. Микробиология, XVIII, 498, 1949.
5. Roberg M. Beiträge zur Biologie von Azotobacter. Jahrb. für Wiss. Bot., 83, 567, 1936.

ОТНОШЕНИЕ К УГЛЕКИСЛОТЕ УКСУСНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ СКОРОГО СПОСОБА ПРОИЗВОДСТВА

З. Г. Разумовская и *Т. З. Белоусова*

Вопрос о значении углекислоты в обмене гетеротрофных микроорганизмов был поставлен в 20-х годах нашего столетия, когда Лебедев [2] выдвинул положение о том, что использование углекислоты в качестве источника углерода присуще не только автотрофным организмам, но является общей закономерностью. Указывая, что многие водоросли способны жить как автотрофно, так и гетеротрофно, и приводя данные своих исследований над водородными бактериями, которые также живут и автотрофно и гетеротрофно, Лебедев считал наиболее вероятным допущение, что углерод в обоих случаях усваивается из углекислоты. На основании своих экспериментов с Aspergillus niger Лебедев также пришел к заключению, что CO_2 для этого микроорганизма является источником углерода.

Положение, выдвинутое Лебедевым, приобретает особый интерес и значение в настоящее время, когда фактический материал многих исследователей свидетельствует о том, что углекислота играет существенную роль в жизнедеятельности гетеротрофных микроорганизмов. Указывается [7], что и Bact. coli и туберкулезная палочка нуждаются в CO_2; углекислота необходима для роста гонококков и менингококков и оказывает влияние на рост Brucella abortus. По данным Мазура [3], туберкулезная палочка может расти на минеральной среде, используя углекислоту воздуха. Аристовская [1] провела опыты с различными микроорганизмами: Bact. subtilis, Bact. fluorescens, Bact. pyocyaneum, Bact. Rabinowitsch, Bact. Grossberger, Bact. smaegmae, Staphylococcus aureus, Az. agile, Az. vinelandii, Mycobacterium rubrum, Mycobacterium aurantiacum, Actinomyces longisporus ruber, Aspergillus niger, Aspergillus oryzae и пришла к заключению, что все изученные ею микроорганизмы нуждаются для своего развития в CO_2.

Скалон [5] указывает на значение CO_2 для молочнокислых бактерий. Без углекислоты задерживается размножение этих бактерий и их количество значительно уменьшается по сравнению с таковым в контроле, культивируемым в присутствии углекислоты.

В литературе приводятся данные [1, 8, 9], показывающие значение углекислоты для анаэробных бактерий.

Вопрос о потребности уксуснокислых бактерий в углекислоте не затронут, и мы приводим наши наблюдения над этими бактериями.

Опыты проводились с тремя культурами Bact. Schuzenbachii, выделенными из производственных аппаратов. Культура № 96 в течение трех лет велась на сусло-агаре в лабораторных условиях. Культуры № 2 и 26 испытывались вскоре после их выделения из заводского окислителя. В качестве питательных сред использованы пивное сусло со спиртом и без добавления спирта, а также синтетическая среда следующего состава:

$NH_4H_2PO_4$	0,3 г
KH_2PO_4	0,2 „
$MgSO_4$	0,05 „
K_2SO_4	0,05 „
Дрожжевая вода (0,5% сухого остатка)	100 мл
Вода водопроводная	до 1 л

К такой среде добавлялось 3% спирта. Указанные среды с добавлением агар-агара служили в качестве плотных сред.

Для удаления углекислоты опытные посевы помещались в эксикаторы, на дно которых наливался 20%-ный раствор КОН. Контрольные чашки и пробирки помещались в такие же эксикаторы, но без щелочи.

Для посева применяли трехсуточную культуру, пленка которой разрушалась длительным встряхиванием и одна петля полученной взвеси наносилась или в жидкую среду, или на поверхность разлитой в чашках агаровой среды и шпателем размазывалась по всей пластинке. Опыты на жидкой среде показали, что удаление углекислоты сказывается на развитии уксуснокислых бактерий, однако количественный учет при этом затруднителен, критерием развития является скорость образования пленок. Удаление CO_2 здесь также встречает трудности. Поэтому мы перешли к постановке опытов на плотных средах. На минеральной среде культура № 96 не росла и опыты проведены с двумя штаммами № 2 и 26.

Таблица 1

Развитие, культуры № 2 на минеральной среде со спиртом

Время с момента посева в сутках	Контроль	Без CO_2
2	0	0
3	++	0
8	++++	0
10	++++	0
12	++++	0
15	++++	0

Примечание. 0 нет роста; ++ мелкие колонии; +++ многочисленные колонии; ++++ многочисленные разросшиеся колонии.

Таблица 2

Развитие культуры № 2 на сусло-агаре со спиртом

Время с момента посева в сутках	Контроль	Без CO_2
2	0	0
3	Многочисленные мелкие колонии	0
7	Многочисленные сливающиеся друг с другом колонии	0
8		Единичные колонии
10		До 40 колоний

В контроле рост появляется на третьи сутки, тогда как без CO_2 и через 15 дней роста нет. Не наблюдалось развития и в дальнейшем, когда чашки были перенесены в эксикатор без щелочи.

В чашках, которые после трех суток пребывания в атмосфере без углекислоты были перенесены в обычные условия, рост появился на восьмые сутки со дня посева, количество колоний определялось в пределах 100. К концу опыта на 15-й день число колоний в этих посевах не превышает 150, тогда как в контрольных чашках отмечался сплошной рост многочисленных колоний.

Аналогичные данные получены и с культурой № 26: также наблюдался хороший рост в контроле и отсутствие роста в чашках, выдержанных в эксикаторе со щелочью в течение 15—17 дней. Но у этой культуры не отмечалось развития и в тех чашках, которые после трех суток пребывания без CO_2 были помещены в нормальные условия.

Таким образом, на синтетической среде со спиртом удаление CO_2 вызвало не только задержку развития бактерий, но и значительную потерю способности к размножению.

В опытах на сусло-агаре со спиртом были получены данные, приведенные в табл. 2.

При удалении CO_2 единичные колонии появляются только на вось-

мой день, и при дальнейшем развитии их вырастает не более 25—40, тогда как в контроле уже на седьмой день имеется сплошное разрастание колоний. Если чашки после первых трех суток пребывания их без CO_2 перенести в нормальные условия, то рост на них появляется на седьмой день. К концу опыта — на 15-й день — развитие гораздо слабее, чем в контроле, и количество колоний достигает примерно 400.

Культура № 26 и на сусле со спиртом гораздо сильнее реагирует на удаление CO_2. На 15-е сутки в контроле хороший рост, а без CO_2 развития нет. На культуре № 96, наоборот, удаление CO_2 сказалось меньше.

Таблица 3

Развитие культуры № 96 на сусло-агаре со спиртом

Время с момента посева в сутках	Контроль	Без CO_2
2	0	0
3	++	0
4	++++	+
5	++++	+++
6	++++	++++

Примечание. Условные обозначения см. в табл. 1.

Здесь и без CO_2 развитие наблюдается, хотя оно и запаздывает, К шестому дню как в контроле, так и в опыте общий вид посева одинаков. В другой постановке, когда щелочь вносилась в часовых стеклах непосредственно в чашки с посевами, удаление CO_2 и на этой культуре сказалось сильнее. Первые следы роста отмечались на четвертый день, однако и на 10—12-й дни количество колоний все еще было небольшое, и они были меньшей величины.

Если эти чашки в дальнейшем поместить в нормальные условия, число колоний не увеличивается. Однако если посевы выдержать без углекислоты только в течение первых трех дней, а затем перенести в условия обычного воздушного режима, то развитие постепенно сравнивается с контролем.

Культура, выросшая в обычных условиях в течение первых двух дней, не реагирует на удаление углекислоты и характер развития в этих случаях такой же, как в контроле.

Эти данные позволяют заключить, что культуры уксуснокислых бактерий на средах со спиртом нуждаются в CO_2.

Удаление CO_2 сказывается на первых этапах развития. В подрастающей колонии, повидимому, создаются условия накопления CO_2. Различная чувствительность к удалению CO_2, можно думать, вызывается скоростью обмена веществ у бактерий и образованием CO_2 в культуре.

Иное поведение культур наблюдалось на сусло-агаре без добавления спирта. Здесь удаление CO_2 не влияло на характер роста. У культуры № 26 без CO_2 на третий день развитие оказалось несколько более слабым, чем в контроле, а у двух остальных никакого различия в развитии не наблюдается. На четвертый день все посевы выглядели одинаково. Создается впечатление, что в отсутствие спирта нормальный обмен обеспечен и необходимость в CO_2 воздуха отпадает; спирт же в отсутствие углекислоты препятствует развитию.

По данным Лебедева, спирт не является источником углекислоты. Шапошников [6], Мантейфель, Богданова и Четверикова [4] указывают, что спирт весьма ценное энергетическое вещество, но не потребляется бактериями для синтетических процессов. Если принять во внимание опыты Tanaka [8], когда при наличии в среде спирта и глюкозы сначала окислялся спирт, а затем глюкоза, то можно думать, что использованию сахара в наших опытах препятствовало наличие спирта и при этих условиях создавалась потребность в CO_2 воздуха. На средах без спирта происходит развитие бактерий и в отсутствие CO_2. Повидимому, в этом случае имеющиеся в среде сахара дают возможность развития и создается источник CO_2.

Таким образом, углекислота — необходимый фактор развития для испытанных нами уксуснокислых бактерий. Потребность в углекислоте воздуха определяется условиями развития и проявляется у разных культур не вполне одинаково.

Walley и Rettger [9] показали, что многие бактерии лучше растут в присутствии повышенной концентрации CO_2.

Действие повышенного содержания углекислоты испытывалось нами в посевах на сусло-агаре со спиртом, помещенных в эксикатор, где содержание CO_2 доводилось до 1%.

Таблица 4

Развитие уксуснокислых бактерий при повышенном содержании CO_2

Время с момента посева в сутках	Культура					
	№ 96		№ 2		№ 26	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
2	0	0	0	0	0	+
3	++	++	++	+++	++	+++
4	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Примечание. Условные обозначения см. в табл. 1.

Если добавление CO_2 не оказало какого-либо действия на культуру № 96, то культура № 2 и особенно № 26 реагировали на добавление CO_2 ускорением роста. Такие же данные мы получили для культур № 2 и 26 на синтетической среде со спиртом. Таким образом, для этих двух культур, которые резко реагировали на удаление CO_2, сильнее сказывалось и повышение содержания углекислоты. Испытанные нами культуры по своим морфолого-биохимическим показателям относятся к одному и тому же виду. Некоторое различие в отношении их к удалению CO_2, повидимому, объясняется особенностями обмена, вызванными различием условий их предварительного культивирования.

Наблюдения, поставленные с целью выяснить отношение к углекислоте уксуснокислых бактерий скорого способа, приводят нас к заключению, что углекислота играет несомненную роль в процессах обмена Bact. Schuzenbachii.

Выводы

1. При удалении CO_2 наблюдается не только задержка в развитии бактерий, но и потеря способности клеток к дальнейшему развитию.

2. Удаление углекислоты по-разному влияет на развитие бактерий в зависимости от состава среды: наиболее резко оно проявилось на минеральной среде со спиртом и совсем не сказалось на сусло-агаре без спирта. Таким образом, в присутствии спирта потребность в CO_2 воздуха проявляется особенно резко.

3. У испытанных трех штаммов Bact. Schuzenbachii наблюдалось различное отношение к удалению CO_2. Отсутствие углекислоты меньше сказывалось на развитии штамма, длительно культивировавшегося в лабораторных условиях на сусло-агаре, и сильно влияло на развитие культур, свежевыделенных из производственных аппаратов.

Ленинградский государственный университет
им. А. А. Жданова

Получено 20.I.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аристовская Т. В. Использование CO_2 и возможность редукции карбоксила гетеротрофами. Микробиология, X, вып. 6, 1941.
2. Лебедев А. Ф. Об ассимиляции углерода сапрофитами. Изв. Донск. гос. ун-та, книга 1, 1921.
3. Мазур Б. Л. К биологии туберкулезной палочки. Казанск. медиц. журн., № 4, 1926.
4. Мантейфель А. Я., Богданова В. и Четверикова И. Взаимосвязь конструктивного и энергетического обмена веществ гетеротрофных бактерий. Микробиология, XVIII, вып. 2, 1949.
5. Скалон И. С. Отношение молочнокислых бактерий к CO_2, ДАН СССР, новая серия, 58, № 6, 1947.
6. Шапошников В. Н. Техническая микробиология. М., 1949.
7. Salle A. I. Fundamental principles of bacteriology. 2 ed., 1943.
8. Tanaka K. Zur Physiologie des Essigbakterien. Acta Phytochim., VII, No. 2, 1933.
9. Walley u. Rettger The influence of carbondioxide on bacteria. J. Bact., 14, 1927.

ОКИСЛЯЮЩИЕ НЕФТЬ БАКТЕРИИ — ПОКАЗАТЕЛИ ИНТЕНСИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ОКИСЛЕНИЯ НЕФТИ В ПРИРОДНЫХ УСЛОВИЯХ

А. А. Ворошилова и Е. В. Дианова

С развитием промышленности многие реки сильно загрязняются нефтью. Поскольку ликвидация нефтяного загрязнения обуславливается главным образом окислением нефти, нам кажется целесообразным разработать методику, которая позволила бы судить о ходе этого процесса в природных условиях. Располагая возможностью предвидеть энергию окисления нефти в реке в зависимости от времени года и особенностей водоема, можно правильнее разрешать вопросы о нормировании спуска нефтяных стоков в каждом отдельном случае и об ареале распространения стоков.

Химические методы дают возможность определять количество растворенной и эмульгированной в воде нефти, но не вскрывают, что лежит в основе количественных изменений ее в реке. А между тем нефть может частично испаряться, оседать на дно [1], выбрасываться на берег и, наконец, биологически окисляться. Бактериологические методы, освещающие биологическую сторону, могут отчасти расчленить эти процессы.

Для выявления и определения интенсивности определенных биохимических процессов, протекающих в водоемах, в почве и др., используются соответствующие микроорганизмы: аммонифицирующие, нитрифицирующие, десульфурирующие и т. д. В качестве таких микроорганизмов, применительно к нефти, можно предложить бактерии, окисляющие нефть.

По вопросу о бактериальном окислении различных углеводородов и нефти имеется обширная литература. Довольно полный обзор работ, касающихся этого процесса, дан в статье Осницкой [4]. Результаты наблюдений за разложением нефти показывают, что распад ее возможен в аэробных и в анаэробных условиях и соответственно с этим вызывается различными группами микроорганизмов [3, 5, 6, 7, 8, 9, 10].

Аэробное окисление нефти проводится довольно многочисленными видами микроорганизмов, относящихся к родам Pseudomonas, Mycobacterium, Corinebacterium, Actinomyces, Proactinomyces, Serratia, Aspergillus, Penicillium и др.

Поскольку в составе растительных организмов встречаются вещества, состоящие из различных углеводородов (смолы, воск, каучук и др.), которые могут быть использованы бактериями, бактерии, окисляющие углеводороды, довольно широко распространены в природе: их можно найти в воде, в почве, на дне морей и рек. Но всякое скопление углеводородов, в том числе и нефти, должно вызывать при наличии других благоприятных условий [2] усиленное размножение этой группы бактерий. Поэтому относительное содержание углеводородокисляющих бактерий в какой-либо среде по отношению к общему количеству в ней бактерий может служить показателем большего или меньшего содержания в ней углеводородов и напряженности процесса их окисления.

Так как в окислении нефти участвует некоторый комплекс микроорганизмов, то в качестве индикаторов на нефть нам кажется наиболее

правильным принимать весь этот комплекс, а не отдельных его представителей, окисляющих, может быть, какой-нибудь из компонентов нефти. В связи с этим для выявления окисляющих нефть бактерий мы предлагаем применять минеральную среду с единственным источником углерода — нефтью. Организмы, не способные использовать нефть, в этой среде развиваться не смогут.

Для обнаружения аэробных окисляющих нефть бактерий мы пользуемся средой следующего состава:

NH_4NO_3 — 1,0 г
K_2HPO_4 — 1,0 „
KH_2PO_4 — 1,0
$MgSO_4$ — 0,2 „
$CaCl_2$ — 0,02 „
$FeCl_2$ — 2 капли концентрир. раствора
дестиллированной воды — 1000 мл

Эта среда разливается по 5 мл в широкие пробирки и стерилизуется в аппарате Коха. Нефть стерилизуется отдельно небольшими порциями в баночках с притертыми пробками. Перед заражением минеральная среда в пробирках сильно взбалтывается для насыщения ее кислородом.

Для количественного определения аэробных окисляющих нефть бактерий в воде и в грунте стерильная минеральная среда в пробирках заражается рядом последовательных разбавлений испытуемого материала, после чего в каждую пробирку добавляется по пять капель стерильной нефти. Посевы выдерживаются в термостате при 23—24° в течение 5—8 дней. Но при интенсивно идущем процессе окисления нефти в воде или в грунте уже на вторые сутки в пробирках с небольшими разбавлениями наблюдается развитие бактерий. Окисляющие нефть бактерии размножаются, как это отмечается и другими исследователями, или в самой среде, образуя сильную муть, или же в зоне соприкосновения с ней нефти, образуя пленку, легко обнаруживаемую при встряхивании среды; сама среда в таких случаях остается прозрачной.

Обнаруженное в воде количество окисляющих нефть бактерий мы сопоставляем с общим количеством бактерий, выросших на МПА, причем процент окисляющих нефть бактерий может подниматься и выше 100 за счет специфической группы этих бактерий, которые на МПА не развиваются или развиваются очень медленно и слабо.

Чтобы выяснить пригодность предлагаемой методики, необходимо прежде всего установить, существует ли определенная связь между распределением окисляющих нефть бактерий в природных водах и наличием в ней нефти, поскольку не все микроорганизмы, участвующие в окислении нефти, являются специфическими для нее.

Для ориентировочных исследований нами были выбраны следующие объекты:

1) вода Косиновского Белого озера как образец чистого водоема, не загрязненного никакими стоками;

2) сточная жидкость местной очистной установки, содержащая хозяйственно-фекальные воды, как образец очень загрязненной воды, но не содержащей нефти;

3) очищенный сток очистного сооружения, содержащий хозяйственно-фекальную жидкость и нефть;

4) нефтяная пленка, частично уже окисленная, собранная с поверхности воды реки в разные сезоны.

Предварительные данные, полученные в результате обследования

этих объектов, подтверждают предположение, что распространение окисляющих нефть бактерий находится в тесной связи с наличием нефти (табл. 1).

Таблица 1

Распространение бактерий окисляющих нефть в различных водах и нефтяной пленке (1948 г.)

Место взятия проб	Дата взятия	Температура в °	Кол-во бактерий на МПА (*а*)	Кол-во окисляющих нефтебактерий (*б*)	% отношения *б/а*
Белое озеро	17.VI	—	4 300	10	0,23
Хозяйственно-фекальный сток, не содержащий нефти . . .	28.VI	—	14 700 000	10 000	0,07
Хозяйственно-фекальный сток, содержащий нефть	10.IX	17	930 000	> 1 000 000	>107,5
Нефтяная пленка на реке в районе нефтебазы	13.IX	18	1 520 000	>10 000 000	>650
Нефтяная пленка на реке, скопившаяся у берега в пункте Б	13.IX	18	1 840 000	>10 000 000	>545
Нефтяная пленка на реке в пункте Б	6.X	8	16 700 000	10 000 000	60

Применяя описанную выше методику, мы проследили распространенность окисляющих нефть бактерий в чистых водоемах, на незагрязненных участках реки, а также в пунктах по течению реки ниже крекинг-завода, откуда поступают сточные воды с большим количеством нефти (табл. 2).

Таблица 2

Распространение бактерий, окисляющих нефть, в чистых водах и процентное отношение их к общему количеству бактерий (на МПА)

Место взятия пробы воды	Дата взятия	Общее кол-во бактерий на МПА	Кол-во окисляющих нефть бактерий	Отношение окисляющих нефть бактерий к общему кол-ву на МПА
Река в 25 км выше города	23.XI.1948	5 100	10	0,2
„ „	24.XII.1948	1 400	1	0,07
„ „	31.I.1949	19 140	10	0,05
„ „	2.II.1949	5 200	100	1,9
Водохранилище	19.V.1949	110	0,5	0,45
„	19.V.1949	32	0,5	1,6
Белое озеро (Косино)	17.VI.1948	4 300	10	0,23
Река в 62 км выше города	21.VI.1948	3 200	10	0,31

При рассмотрении полученных результатов можно заметить, что обследованные нами чистые водоемы и чистые районы реки (до города) характеризуются сравнительно небольшим содержанием сапрофитных бактерий — от 30 до 19 000 в 1 мл воды. Абсолютное количество окисляющих нефть бактерий в чистых водоемах не превышает 100 в 1 мл

воды, в 50% всех наблюдений равняется 10 бактериям в 1 мл воды. Процентное содержание окисляющих нефть бактерий очень небольшое, колеблется от 0,05 до 5,0%, в большинстве же случаев (в 50%) оно меньше 1%. Наиболее низкий процент этих бактерий наблюдается в реке выше города в декабре и январе — 0,05.

Распространение окисляющих нефть бактерий в воде, загрязненной нефтью, было обследовано на реке от крекинг-завода вниз по течению на участке протяженностью в 138 км в следующих пунктах:

Пункт А — 100 м от стока крекинг-завода
„ Б — 3 км „ „
„ В — 18 „ „ „
„ Г — 55 „ „ „
„ Д — 67 „ „ „
„ Е — 125 „ „ „
„ Ж — 138 „ „ „

Наблюдения проводились путем проезда по реке и одноразового отбора проб воды в трех точках у каждого пункта. Каждая цифра является средней из анализа трех параллельных образцов воды. В 1948 г. наблюдения захватили зиму и осень, в 1949 г.— зиму, лето и осень.

По сравнению с чистыми водоемами вода загрязненных участков реки, ниже стоков очистного сооружения и крекинг-завода, отличается большим содержанием бактерий. Общее количество бактерий (на МПА) в наиболее загрязненных районах колеблется от 2 600 000 в 1 мл воды в зимнее время до 150 000 в летний период; количество окисляющих нефть бактерий в теплые сезоны колеблется от десятков миллионов до десятков тысяч в 1 мл воды, превосходя иногда в 10—80 раз количество прочих сапрофитов (на МПА).

На количественное распределение окисляющих нефть бактерий в воде, загрязненной нефтью, как это видно из помещаемых ниже данных, большое влияние оказывает температура воды, расстояние от стоков и количество поступающей в реку нефти.

В литературе имеются указания, что развитие бактерий, окисляющих углеводороды, возможно и при низкой температуре, но протекает оно в этих условиях крайне медленно; более благоприятной для развития этих бактерий является температура 30—37°, уже при 20° интенсивность их размножения падает.

В летне-осенний период (табл. 3), благодаря сравнительно высокой температуре воды (20—15°), размножение окисляющих нефть бактерий начинается в стоках, по всей вероятности, еще до поступления их в

Таблица 3

Распространение бактерий, окисляющих нефть, в воде реки по ее течению в осенний период (сентябрь 1948 г.)

Пункты реки	Дата взятия пробы воды	Температура воды в °	Кол-во бактерий на МПА (*а*)	Кол-во окисляющих нефть бактерий (*б*)	% отношения *б*/*а*
А	13.IX	18	606 000	>10 000 000	>1 650
Б	13.IX	18	133 000	>10 000 000	>7 520
В	16.IX	16	78 000	>10 000 000	>12 800
Д	18.IX	15	1 000	1 000	100
Е	23.IX	14	7 000	1 000	14

реку: уже на участке реки между крекинг-заводом и пунктом Б количество этих бактерий доходило в 1948 г. до десятков миллионов и сотен тысяч и держалось на этой высоте то до пункта Б, то до пункта В, превосходя общее число бактерий на МПА в 16—120 раз. В то время как общее число бактерий (на МПА) снижается к пункту В на 80% от количества их в пункте А, окисляющие нефть бактерии остаются на том же уровне и в пункте В, и только ниже этого пункта отмечается снижение их до тысяч и сотен в 1 мл воды (табл. 3).

В летне-осенний период в 1949 г. (табл. 4) количество нефти, сбрасываемой в реку, было меньше, чем в 1948 г. Это явление не могло не отразиться и на количестве окисляющих нефть бактерий в эти годы. Несмотря на то что температура воды в реке в сентябре 1948 г. почти не отличалась от температуры июня, июля и сентября 1949 г., в 1949 г. количество окисляющих нефть бактерий достигало только 100 000, что составляло 37—48% от общего количества сапрофитов. Снижение их начиналось раньше, чем в 1948 г.,— уже в пункте В (табл. 4), т. е. граница распространения нефтяного загрязнения сокращалась в связи с уменьшенным спуском нефти.

Таблица 4

Распространение бактерий, окисляющих нефть, в воде реки по ее течению в летне-осенний период 1949 г.

Пункты реки	Дата взятия пробы	Температура воды в °	Кол-во бактерий на МПА (*а*)	Кол-во окисляющих нефть бактерий (*б*)	% отношения *б/а*
А	22.VI	—	294 000	100 000	34,0
Б	24.VI	18	268 000	100 000	37,2
В	16.VI	16	27 000	10 000	37,0
Д	24.VI	16	9 800	100	1,0
Б	12.VII	20	165 000	40 000	24,2
В	14.VII	20	78 000	37 000	47,0
Д	8.VII	19	8 000	1 000	13,0
А	20.IX	16	310 000	100 000	48,0
Б	22.IX	16	210 000	100 000	48,0
В	24.IX	15	150 000	10 000	6,6
Д	26.IX	—	11 000	400	3,7

В позднюю осень, в октябре 1948 г. (табл. 5), температура воды падает с 20—15° до 9—5°. Снижение температуры на каждые 10° понижает бактериальные процессы в 2—3 раза. В связи с этим максимум окисляющих нефть бактерий, наблюдавшийся в летний период выше пункта А, перемещается теперь к пункту А: количество этих бактерий с 40 000 в 1 мл (7%) в районе пункта А поднимается в пункте Б до 400 000 (55%). Процесс окисления нефти замедляется, растягивается по течению реки, количество окисляющих нефть бактерий, снизившись до 10 000 в пункте Г, держится до пункта Е на этом же уровне, т. е. на 80—86% от общего количества бактерий (МПА) (табл. 5).

Совершенно иная картина наблюдается на реке в зимний период (табл. 6): во всех обследованных пунктах, даже в верхних створах, свободных от льда, количество окисляющих нефть бактерий не поднимается выше 10 000 в 1 мл воды. В то же время общее количество бактерий на МПА доходит до миллиона и сотен тысяч в 1 мл воды. Процентное отношение окисляющих нефть бактерий к количеству бак-

Таблица 5

Распространение бактерий, окисляющих нефть, в воде реки по ее течению поздней осенью в 1948 г.

Пункты реки	Дата взятия пробы	Температура воды в °	Кол-во бактерий на МПА (*а*)	Кол-во окисляющих нефть бактерий (*б*)	% отношения *б*/*а*
А	6.X	3,0	561 000	40 000	7,1
Б	6.X	9,0	723 000	400 000	55,3
В	8.X	7,5	60 700	100 000	164,6
Г	9.X	7,0	11 600	10 000	86,0
Д	11.X	6,0	12 600	10 000	79,0
Е	16.X	5,0	11 500	10 000	86,9

терий на МПА колеблется от 0,05 до 2,7% и только в одном пункте — в пункте В — повышается до 5,7%. Такое слабое развитие окисляющих нефть бактерий в зимний сезон в воде обследованной реки, обнаруженное в 1948 и в 1949 гг., свидетельствует о большой заторможенности процесса окисления нефти в период низких температур, с чем безусловно необходимо считаться при нормировании спуска нефтесодержащих стоков в реку.

Таблица 6

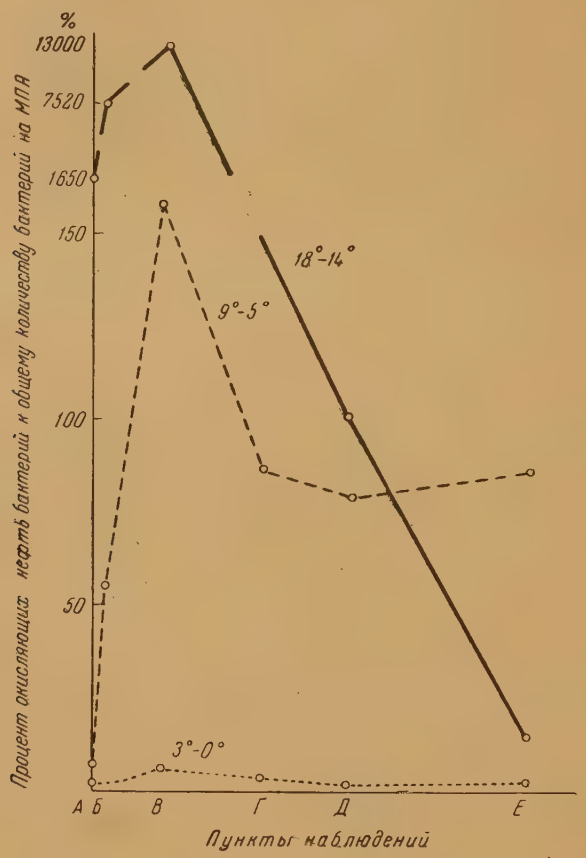
Распространение бактерий, окисляющих нефть, в воде реки по ее течению в зимний период 1948—1949 гг.

Год	Пункты реки	Дата взятия пробы	Температура воды в °	Общее кол-во бактерий (*а*)	Кол-во окисляющих нефть бактерий (*б*)	% отношения *б*/*а*
	В	4.III	1,6	2 625 000	10 000	0,38
1948	Д	23.III	0,5	200 000	100	0,05
	Ж	25.III	0,5	20 000	10	0,5
	Ниже очистного сооружения	18.II	3,0	370 000	10 000	2,7
1949	А	18.II	4,0	492 000	10 000	2,0
	Б	19.II	2,0	638 000	10 000	1,6
	В	25.II	3,0	645 000	37 000	5,7
	Д	25.II	0,0	305 000	1 000	0,3
	Е	2.III	0,0	44 000	1 000	2,3

Более наглядное представление о закономерности развития окисляющих нефть бактерий в реке, загрязненной нефтью, в различные сезоны дают кривые, где изображено распространение их по течению обследованной реки ниже крекинг-завода в сентябре, когда температура воды колебалась от 18 — до 14°, в октябре, когда температура снизилась до 9—5°, и зимой в феврале и марте при трехградусной и нулевой температуре (рисунок).

По мере окисления нефти происходит смена одних групп нефтеокисляющих бактерий на другие. Наряду с бактериями, которые, раз-

виваясь за счет нефти, растут и на МПА, выделены бактерии более специализированные, дающие прекрасный рост на среде с нефтью и едва заметный налет на МПА.



Развитие окисляющих нефть бактерий в воде реки по ее течению в зависимости от температуры воды

Выводы

1. Наличие окисляющих нефть бактерий в воде водоемов тесно связано с присутствием в ней нефти, что позволяет использовать их в качестве показательных организмов для исследования процесса окисления нефти в естественных условиях.

2. Минеральная среда с нефтью в качестве единственного источника углерода дает возможность выявить окисляющие нефть бактерии и определить их количество в исследуемом объекте.

3. Поскольку бактерии, окисляющие углеводороды, довольно широко распространены в природе, более правильную оценку заселенности воды окисляющими нефть бактериями может дать не абсолютное их количество, а процентное отношение к числу бактерий, растущих на МПА.

4. Наиболее слабо во все времена года представлены окисляющие нефть бактерии в чистых водоемах и в чистых районах реки (0,05—5% к общему числу бактерий). На участке реки, загрязненном нефтью, абсолютное и процентное содержание окисляющих нефть бактерий значи-

тельно выше, чем в чистых водоемах, и сильно колеблется в зависимости от времени года: оно очень велико летом (в 16—116 раз больше общего числа сапрофитов) ниже осенью (в 1,5 раза превышает общее число сапрофитов) и совсем ничтожно в зимний период (0,05—5,7% от общего числа сапрофитов).

5. Вдоль по течению реки в теплое время года (18—14°) происходит вначале наиболее быстрый и высокий подъем абсолютного количества и процентного содержания окисляющих нефть бактерий, и затем по течению реки быстрая их убыль до 14—1% от общего числа сапрофитов в конечном пункте наблюдений. В позднюю осень (температура воды 9—5°) нарастание количества и процентного содержания окисляющих нефть бактерий значительно более низкое, чем летом, однако и снижение их идет более медленно, не падая ниже 86% в конечном пункте наблюдений. В зимний период размножение окисляющих нефть бактерий, следовательно, и окисление нефти ничтожно малы на всем протяжении реки; содержание их колеблется от 0,05 до 5,7%, в то же время общее количество бактерий (на МПА) выражается в сотнях тысяч в 1 мл воды.

6. Интенсивность развития окисляющих нефть бактерий в водоемах позволяет определить сравнительную скорость биохимического ее окисления и выявить факторы, стимулирующие или тормозящие этот процесс в природных условиях.

Получено 9.XI.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ворошилова А. А. и Дианова Е. В. О бактериальном окислении нефти и ее миграции в природных водоемах. Микробиология, XIX, вып. 3, 1950.
2. Изьюрова А. И. Условия биохимического окисления нефтяных масел. Гигиена и санитария, № 7—8, 1944.
3. Малиянц А. и Рейнфельд З. Нефтепродукты, как источник углерода для денитрифицирующих бактерий. Новости нефтепереработки, № 12 (36) июнь, 358, 1935.
4. Осницкая Л. К. Разрушение углеводородов бактериями (обзор). Микробиология, XV, вып. 3, 1946.
5. Таусон В. О. Бактериальное окисление нефти. Нефтяное хозяйство, 14, 220, 1928.
6. Таусон В. О. и Алешина В. И. О восстановлении сульфатов бактериями в присутствии углеводородов. Микробиология, I, вып. 3, 1932.
7. Таусон В. О. и Веселовский И. Я. О бактериальном разложении циклических соединений при восстановлении сульфатов. Микробиология, III, вып. 3, 1934.
8. Таусон В. О. и Таусон Т. А. О бактериальном окислении растительных смол. Микробиология, III, вып. 3, 1934.
9. Таусон В. О. и Шапиро С. А. Общее направление окисления нефти бактериями. Микробиология, III, вып. 1, 1934.
10. ZoBell C. Action of microorganisms on hydrocarbons. Bact. Rev., 10, No 1—2, p. 1, 1946.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ В КОРНЕВОЙ СИСТЕМЕ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ

Е. Ф. Березова и *Е. Х. Ремпе*

Бобовые относятся к растениям ярко выраженного бактериотрофного типа питания. Их рост и развитие в естественных условиях зависят от деятельности клубеньковых бактерий, доставляющих растению основной элемент пищи — азот. Понятно поэтому, что при разработке различных агротехнических мероприятий по возделыванию бобовых растений, а также при выяснении взаимоотношения растения с клубеньковыми бактериями исследователей в первую очередь интересует вопрос, как влияют те или иные факторы на размножение клубеньковых бактерий в корневой системе бобового растения.

Между тем до сего времени нет простой методики определения количества клубеньковых бактерий в корнях бобового. О степени развития клубеньковых бактерий обычно судят по числу образовавшихся клубеньков, хотя давно уже выяснено, что между числом клубеньков и ростом растений не всегда существует прямая зависимость. Известно, что такой прием, как, например, нитрагинизация, повышает часто не количество, а размер клубеньков у бобового растения. Для получения более достоверных данных, вместо количества, определяют вес или объем образовавшихся клубеньков на корнях. Полученные этим методом данные также не всегда дают хорошее совпадение с урожаем, не говоря уже о том, что эта работа очень трудоемка, требует большой затраты времени и усилий и почти неприменима для растений, имеющих большое количество мелких клубеньков, например для клевера.

Методика Ковровцевой [2], равно как и модификация этого метода, предложенная Красильниковым и Кореняко [4], также имеет ряд существенных недостатков, сильно ограничивающих ее применение. Эта методика очень громоздка и длительна. Ее нельзя применять в жаркие летние месяцы, ввиду того что при температуре свыше 30° клубеньки уже не образуются. Кроме того, эта методика позволяет учитывать лишь вирулентные культуры клубеньковых бактерий; если бактерии потеряли вирулентность, исследователь уже не имеет возможности определить их количество.

Занимаясь в течение ряда лет изучением корневой микрофлоры различных растений, в том числе и бобовых, мы выяснили, что можно очень просто определить количество клубеньковых бактерий в корнях бобового растения. Принятая в лаборатории микробиологии полеводства Московского отделения Института сельскохозяйственной микробиологии методика изучения корневой микрофлоры вкратце состоит в следующем. Растение осторожно извлекают из почвы в виде монолита 100—200 $см^2 \times 15$—20 см и осторожно отмывают корни от почвы в периодически сменяемой воде. После отмывания отбирают растения с наименее поврежденными корнями и из отобранной пробы пинцетом удаляют все посторонние примеси. Затем отобранные корни навесу обмывают стерильной водопроводной водой и после стекания воды боковые корни (без стрежневого) нарезают мелкими отрезками в стерильную чашку Петри с кружком фильтрованной бумаги. Из нарезанных корней берут среднюю пробу в количестве: 5 г для бобовых и по 1 г для остальных

растений (при исследовании в динамике для каждого растения всегда надо брать одну и ту же навеску корней). Затем корни (у бобовых вместе с клубеньками) растирают в стерильной ступке, переносят в колбу, встряхивают в течение пяти минут и после соответствующего разведения производят поверхностный высев 0,05 мл взвеси на подсушенные твердые питательные среды в чашки Петри.

С 1945 г. для исследования микрофлоры мы используем набор разработанных нами синтетических сред, имеющих общую минеральную основу следующего состава K_2HPO_4 и KH_2PO_4, по 1 г и $MgSO_4$ — 0,2 г/л. К этой минеральной основе добавляются в различном сочетании источники углерода в количестве 1 г/л и источник азота в количестве 0,1—0,2 г/л. Источники углерода и азота подбираются, исходя из состава корневых выделений или состава корня (углерод дается в форме сахаров, органических кислот или полисахаридов, азот — в форме аминокислот или в минеральной форме).

Для изучения корневой микрофлоры бобовых мы употребляли следующие среды:

Среда № 1 — сахарозо-нитратная
„ № 3 — сахарозо-тирозиновая
„ № 6 — яблочнокислый натр — нитраты
„ № 7 — яблочнокислый натр — тирозин
„ № 20 — крахмало-аммиачная
„ № 30 — маннит — тирозин
„ № 8 — безазотистая и т. д.

Для сравнения, а также для учета флуоресцирующих бактерий всегда производится высев также и на МПА.

При исследовании микрофлоры бобовых растений на указанных синтетических средах вырастали очень однотипные колонии, иногда почти в чистой культуре, по внешнему виду очень напоминающие колонии клубеньковых бактерий. Как правило, на чашке встречаются лишь единичные колонии посторонних видов, чаще всего более прозрачные, по виду напоминающие колонии, которые дает на этих средах радиобактер. Учитывая, что при изучении микрофлоры бобовых приходится высевать суспензию из больших разведений 4-го и 5-го (т. е. при высеве 0,05 мл на чашку фактически еще в 20 раз больше), можно было с большой долей вероятности предположить, что мы имеем дело действительно с клубеньковыми бактериями. Однако мы не ограничились таким предположением. Колонии, выросшие на чашках, выделялись в чистые культуры и идентифицировались. По всем признакам это оказались бактерии, сходные с клубеньковыми. Для окончательной проверки принадлежности бактерий к клубеньковым, колонии, которые при подсчете учитывались как клубеньковые, выделялись в чистую культуру и проверялись на способность образовывать клубеньки по методике Ковровцевой. Результаты опытов представлены в табл. 1.

Таблица 1

Проверка выделенных культур на способность образовывать клубеньки на корнях растений

Название растения	Всего испытано культур	Дали клубеньки	Не дали клубеньков
Вика	85	78	7
Люцерна	95	87	8
Клевер	153	143	10
Всего культур	333	308	25

Как видно из приведенных данных, лишь в 7,5% случаев культуры, выделенные нами как клубеньковые, не вызывали образования клубеньков при заражении семян у соответствующих растений. Большинство

культур, не давших клубеньков, выделено в период всходов. Это предварительное наблюдение заслуживает безусловного внимания. Из опытов Лазаревой [7] и наших предварительных опытов выяснилось, что вирулентность клубеньковых бактерий и их активность возрастают по мере развития растения. Наименьшей вирулентностью и активностью обладают бактерии, выделенные в период всходов. Очень возможно поэтому, что выделенные нами культуры также относились к клубеньковым. Вопрос этот заслуживает дальнейшего исследования. Тот факт, что более 90% бактерий, выделенных с корней различных растений, оказались при проверке клубеньковыми, заставляет нас с большой долей вероятности признать вырастающие бактерии за клубеньковые и применять указанную методику для определения их количества в корневой системе бобовых растений. Для учета клубеньковых бактерий рекомендуем одну из нижеследующих сред: № 3, 8 и 30, а также среду Алисона.

За 10 лет работы указанная методика применялась нами для различных целей и неизменно давала очень интересные результаты. Мы приведем ниже данные, полученные при изучении двух вопросов: изменения количества клубеньковых бактерий по периодам развития растения и изменения количества клубеньковых бактерий при внесении различных удобрений (в частности, при известковании и внесении фосфорных удобрений).

Как ни странно, но в литературе почти отсутствуют данные по изменению количества клубеньковых бактерий в различные периоды вегетации бобового растения. Между тем вопрос этот заслуживает большого внимания как для понимания взаимоотношения между растениями и микроорганизмами, развивающимися в его корневой системе, так и для разработки агротехнических приемов возделывания бобовых растений. Мы имели возможность проследить за изменением количества клубеньковых бактерий в различные периоды вегетации в условиях вегетационных и полевых опытов.

Первые исследования были посвящены определению количества клубеньковых бактерий на корнях вики. Исследования проводились в течение трех лет в условиях вегетационного опыта. Данные представлены в табл. 2.

Таблица 2

Изменения количества клубеньковых бактерий на корнях вики по фазам развития растения (количество бактерий в миллионах на 1 г корней)

Условия опыта	Фазы развития растения				
	всходы	начало стеблевания	бутонизация	цветение	созревание
Почва поймы р. Пахры; данные 1945 г.	28,8	81,9	539,1	420,0	1085,3
То же, данные 1946 г.	1,4	116,1	486,0	448,0	1494,0

Примечание. Растения выращивались в сосудах Вагнера при 60% влажности от полной влагоемкости.

Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что на корнях растения в период всходов количество клубеньковых бактерий относительно невелико. Резкое возрастание числа бактерий начинается только спустя две недели после всходов и продолжается до бутонизации. В период

цветения (а иногда бутонизации) отмечается некоторое падение их числа. В период созревания, наоборот, снова наблюдается резкое возрастание количества клубеньковых бактерий.

Аналогичные данные были получены и у других растений. Так, были проанализированы корни фасоли, выращенной в условиях поливного хозяйства в Киргизии и корни люцерны в полевых опытах Всесоюзного научно-исследовательского института кормов им. В. Р. Вильямса. Данные представлены в табл. 3.

Таблица 3

Количество клубеньковых бактерий у растений, выросших в условиях полевого опыта (количество бактерий в миллионах на 1 г корней)

Растения	Фазы развития растения				
	всходы	начало стеблевания	бутонизация	цветение	созревание
Фасоль	10,6	275,0	730,0	2400,0	4400,0
Люцерна 2-го года жизни I		502,0	4650,0	372,0	—
„ 3-го „ „ I		230,0	174,0	261,0	—
„ 2-го „ „ II		141,0	—	544,0	875,0
„ 3-го „ „ II		9,0	—	170,0	1143,0
Клевер 3-го „ „		46,0	205,0	167,0	—

Примечание. I — опыт проводился в 1950 г.; II — опыт проводился в 1948 г.

Приведенные данные показывают, что и для других бобовых растений, в том числе и для многолетних, имеет место установленная закономерность.

Таким образом, на основании исследования различных растений можно придти на первый взгляд к парадоксальному выводу — наибольшее размножение бактерий происходит при созревании, т. е. в начале отмирания растения. Получается впечатление, что в период созревания устранен какой-то фактор, до этого задерживавший размножение бактерий в корнях.

Исследованиями Красильникова и Кореняко [5] установлено, что в корнях бобового растения имеются бактерицидные вещества, задерживающие развитие бактерий.

Исследованиями в нашей лаборатории установлено, что количество этих веществ меняется по фазам развития растения. Максимальное количество бактерицидных веществ вырабатывается в период от бутонизации до цветения. Накопление этих веществ является одним из основных факторов, задерживающих размножение клубеньковых бактерий в эти периоды жизни бобового растения.

Факт хорошего размножения клубеньковых бактерий на мертвых корнях был установлен Красильниковым и Никитиной [6], Березовой [1] при разработке упрощенного метода приготовления нитрагина. При компостировании корней в течение двух недель количество клубеньковых бактерий возрастает в десятки и сотни раз, очевидно, за счет потребления крахмала, содержащегося в клубеньках.

Не меньший интерес представляет изучение свойств клубеньковых бактерий в различные периоды вегетации. Остаются ли они постоянными или изменяются в связи с изменением условий в корневой системе раз-

вивающегося растения? Изучение этого вопроса не стояло в плане наших исследований. Однако методика исследования позволяет получить ряд данных и по этому вопросу. К настоящему времени имеется много наблюдений, которые указывают на факт несомненного изменения свойств клубеньковых бактерий во время их жизни в корнях бобового. Мы уже приводили данные об изменении вирулентности клубеньковых бактерий в разные периоды вегетации. Наблюдения за внешним видом колоний, а также сопоставление количества и вида колоний, вырастающих на разных средах, в разные периоды вегетации растения, несомненно, указывают на то, что свойства клубеньковых бактерий не остаются неизменными и что в течение вегетации изменяется физиология питания бактерий в корнях. Так, в ранние периоды роста растения клубеньковые бактерии, живущие в его корнях, предпочитают в качестве энергетического вещества моно- и дисахариды, в более поздние периоды — органические кислоты и, наконец, в период созревания — полисахариды и, в частности, крахмал.

В табл. 4 представлены данные количества клубеньковых бактерий на разных средах в различные периоды развития растения.

Таблица 4

Количество клубеньковых бактерий вики на разных средах в различные периоды вегетации (в миллионах на 1 г корней)

Состав сред	Всходы	Стеблевание	Бутонизация	Цветение	Созревание
I Опыт					
Сахарозо-нитратная	1,9	122,0	386,0	—	—
Яблочнокислый натр — нитраты	1,6	130,0	524,0	—	—
Сахарозо-тирозиновая	2,5	116,0	486,0	448,0	1046,0
Яблочнокислый натр — тирозин	1,4	134,0	386,0	359,0	1494,0
Крахмало-аммиачная	2,0	136,0	553,0	451,0	1467,0
II опыт					
Сахарозо-нитратная	—	104,7	247,8	43,5	784,0
Яблочнокислый натр — нитраты	—	118,0	260,0	57,1	544,0
Сахарозо-тирозиновая	—	125,9	173,9	33,5	820,0
Яблочнокислый натр — тирозин	—	120,0	213,0	38,5	549,3
Крахмало-аммиачная	2,0	76,0	—	88,6	1180,0

Изменяется не только количество бактерий, изменяется и величина и отчасти внешний вид колоний. Так, в ранние периоды развития растения клубеньковые бактерии очень плохо растут на крахмало-аммиачной среде. Колонии очень мелкие и плохо выражены. Без сопоставления с колониями, выросшими на других средах, трудно было бы даже установить их принадлежность к клубеньковым. По мере развития растения клубеньковые бактерии начинают лучше расти на этой среде и к созреванию уже, очевидно, вполне приспосабливаются к использованию этого энергетического вещества.

Такие же данные получаются при высеве на семенные агары, приготовленные из семян анализируемого растения. В период всходов и начала стеблевания клубеньковые бактерии отказываются расти на агаре из семян вики. Начиная с фазы цветения, появляются единичные колонии клубеньковых бактерий и в период созревания на этом агаре уже вырастают типичные клубеньковые бактерии, хотя и в значительно меньшем количестве, чем на синтетических средах.

Приведенные данные показывают, что с развитием растения меняется не только количество, но и свойства клубеньковых бактерий.

Как говорилось выше, мы применили указанную методику и для изучения влияния различных агротехнических приемов на изменение количества клубеньковых бактерий в корнях бобового растения. Известно, что известкование кислых почв является одним из основных условий получения высоких урожаев клевера и особенно люцерны. Несомненно, что повышение урожая бобового при известковании в значительной мере объясняется увеличением количества клубеньковых бактерий в его корневой системе. Между тем определение количества клубеньков на корнях растения, выросшего на известкованной и кислой почве, не всегда обнаруживает эффект от известкования. Определение количества бактерий в корневой системе показывает, что известкование и внесение фосфорных удобрений повышает количество клубеньковых бактерий в корнях клевера и люцерны. Приводим соответствующие данные (табл. 5).

Таблица 5

Влияние известкования и внесения фосфорных удобрений на количество клубеньковых бактерий в корнях клевера

Варианты опыта	Количество клубеньковых бактерий в миллионах на 1 г корней		
	I опыт	II опыт	III опыт
Контроль	92,4	172,0	248,0
Известковано . .	145,6	491,0	842,0
Контроль	200,0	200,0	—
С внесением фосфора	515,0	314,0	—

Примечание. Данные по количеву клубеньковых бактерий хорошо согласуются с урожайными данными.

Представленные в табл. 5 данные показывают, что при помощи высева на питательные среды можно установить, что такие агротехнические приемы, как известкование или внесение повышенных доз фосфора (даже на кислой почве), прежде всего действуют положительно на развитие клубеньковых бактерий в корневой системе, в свою очередь и повышает урожай. Высев на среды дает возможность судить также и об изменении прочей микрофлоры, что также имеет большое значение. Из данных Красильникова [3] и наших исследований известно, что среди представителей микрофлоры бобовых имеются виды как стимулирующие, так и угнетающие развитие клубеньковых бактерий. Поэтому состав сопутствующей микрофлоры также имеет значение для урожая.

Указанная методика рекомендуется нами для учета количества клубеньковых бактерий только в корнях бобового растения. Ею нельзя пользоваться для определения количества этих бактерий в корневой системе других растений или в почве, так как среди большого числа других микроорганизмов нельзя подсчитать колонии клубеньковых бактерий. Наоборот, среди подавляющего числа колоний клубеньковых бактерий при анализе корневой микрофлоры бобового растения легко отличить единичные колонии посторонних бактерий.

Выводы

1. Высев отмытой и растертой корневой системы бобовых растений на специальные питательные среды дает возможность с достаточной точностью судить о количестве клубеньковых бактерий в корневой системе бобовых растений.

2. Полученные данные показывают, что количество клубеньковых бактерий меняется по фазам развития растения. До бутонизации идет резкое возрастание числа бактерий в корневой системе бобового. Во время цветения количество клубеньковых бактерий падает и вновь

резко возрастает к созреванию. Во время вегетации меняются и свойства клубеньковых бактерий под влиянием меняющихся условий их существования в корневой системе бобового.

3. Повышение урожая бобовых при применении агротехнических приемов, таких, как, например, известкование и внесение фосфорных удобрений, в первую очередь объясняется действием этих факторов на развитие в корневой системе микробов, обуславливающих бактериотрофный тип питания бобового растения.

Московское отделение Института сельскохозяйственной микробиологии

Получено 9.X.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березова Е. Ф. Упрощенный метод приготовления нитрагина. Рефераты работ научно-иссл. ин-тов Отделения биологических наук за 1941—1943 гг., стр. 131, М., 1945.
2. Ковровцева С. А. Исследования над клубеньковыми бактериями. 1. К методике проверки активности клубеньковых бактерий. Тр. Ин-та с.-х. микробиологии, т. III, 1928.
3. Красильников Н. А. и Кореняко А. И. О методе количественного учета клубеньковых бактерий в почве. Микробиология, IX, 105, 1940.
4. Красильников Н. А. и Кореняко А. И. Влияние почвенной микрофлоры на вирулентность и активность клубеньковых бактерий. Микробиология, XIII, 39, 1944.
5. Красильников Н. А. и Кореняко А. И. Бактерицидность растительного сока. Рефераты работ научно-иссл. ин-тов Отделения биологических наук за 1945 г., стр. 144, М. 1947.
6. Красильников Н. А. и Никитина Н. И. Влияние разлагающихся корней на состав микрофлоры в почве. Почвоведение, 40, 131, 1945.
7. Лазарева Н. М. Изменение активности клубеньковых бактерий в зависимости от возраста и фазы вегетации бобового растения. Тр. Ин-та с.-х. микробиологии, XII, 103, 1951.

ПРОДВИЖЕНИЕ ЭСПАРЦЕТА В ЗАСУШЛИВЫЕ СТЕПНЫЕ РАЙОНЫ И РОЛЬ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ

А. А. Корнилов и *В. В. Вертелецкая*

В послевоенную пятилетку началось энергичное продвижение культуры эспарцета в степные районы. Посевы его выросли в несколько раз, причем главным образом в засушливых степях Северного Кавказа, Западной Сибири и Казахстана, тогда как 20—30 лет назад эспарцет занимал значительные площади только в лесостепи Украины.

Расширение посевов в районах суровой зимовки оказалось возможным лишь в связи с введением в культуру нового вида эспарцета-Песчаного (Onobrychis arenaria DC) выделяющегося своей исключительной зимостойкостью и высокой засухоустойчивостью. Карагандинской сельскохозяйственной опытной станцией выведен высокоурожайный сорт эспарцета Долинский Песчаный № 1, районированный для пяти областей Казахской ССР, который в настоящее время широко внедряется в колхозные посевы в травосмесях со злаками — житняком и пыреем.

Чем объясняется успешная конкуренция эспарцета с люцерной в условиях засушливой степи? Прежде всего более высокой и устойчивой урожайностью сена и семян. По урожаю сена в травосмеси Песчаный эспарцет постоянно дает превышение над люцерно-злаковой травосмесью, особенно в засушливые годы. Основное затруднение в продвижении люцерны в условиях недостаточной водообеспеченности — это большая неустойчивость урожая семян. У люцерны, как правило, семена получаются только со второго года жизни, в редких случаях в течение двух лет в ротацию и при этом с резкими колебаниями от 70—100 до 20—30 кг/га. В тех же условиях засушливой степи эспарцет дает постоянный устойчивый урожай семян от 2 до 8 ц/га в зависимости от уровня агротехники. При этом на том же посеве можно получать семена в течение трех-четырех лет подряд.

При выяснении того, с какими свойствами связана повышенная стойкость Песчаного эспарцета и его высокая семенная продуктивность, мы обратили внимание на роль клубеньковых бактерий.

Известно, что клубеньки на корнях эспарцета образуются особым видом Rhizobium symplex, тогда как для люцерны и донника специфичен Rhiz. meliloti.

Однако данные о своеобразии этих видов клубеньковых бактерий, об отличиях их культуральных и биологических свойств крайне недостаточны.

В определителе бактерий Красильникова [2] имеется указание, что у Rhiz. symplex наблюдается значительное биологическое разнообразие штаммов: одни свертывают молоко, другие его пептонизируют; одни восстанавливают нитраты, другие нет. Но связано ли это разнообразие штаммов с разными видами эспарцета или с почвенно-климатическими особенностями зоны его возделывания — этот вопрос пока не выяснен.

В обстоятельной работе по эспарцету Петросян и Мирзабекян [3] основное внимание было сосредоточено на анатомических изменениях в клубеньках эспарцета. Проводившиеся в течение 17 месяцев анализы (с 4 июня 1934 г. по 27 октября 1935) не сопоставлялись с метеорологическими условиями и с влажностью почвы.

В специальной литературе мы не нашли также указаний на большие различия в требованиях к среде обитания у клубеньковых бактерий эспарцета и люцерны.

В большинстве сводок и статей, в том числе и в капитальной монографии Федорова [4] принято обычно рассматривать клубеньковые бактерии и их свойства на основании результатов изучения ограниченного количества видов, распространяя выводы на все клубеньковые бактерии. Такие обобщения мы считаем далеко не обоснованными.

Мы поставили перед собой задачу установить определенные биологические различия между клубеньковыми бактериями люцерны и эспарцета. Эти две культуры являются основными бобовыми компонентами травосмеси для засушливой степи. В то время как по люцерне в литературе имеются многочисленные и многолетние данные, о клубеньках эспарцета встречаются лишь единичные упоминания. Нами для сравнительного исследования были взяты данные о количестве клубеньков

люцерны и эспарцета по двум годам: 1947 г.— наиболее влажному за последние 20 лет, и 1950 г.— одному из наиболее засушливых.

В 1947 г. за пять весенне-летних месяцев выпало дождей вдвое больше многолетней средней и почти вчетверо больше, чем в 1950 г. Резко сниженное количество осадков в 1950 г. сочеталось с высокими температурами на поверхности и в верхних слоях почвы: максимальная температура на поверхности почвы достигала в июле 55—57°, при средней за месяц температуре на почве в 14 часов 40—42°. В связи с этим, если руководствоваться показателями гидротермического коэффициента то лето 1947 г. (май — июнь — июль) имело хорошее увлажнение, приближаясь к лесостепной зоне, тогда как в 1950 г. в июне — июле — августе на Карагандинской сельскохозяйственной опытной станции господствовал климат полупустыни (коэффициент 0,2—0,3).

Таблица 1

Влажность пахотного слоя почвы под травами в 1950 г.

Культура и год жизни / Дата определения	Люцерна			Эспарцет		
	2	3	4	2	3	4
30 июня	5,1	5,2	—	—	—	—
23 августа	5,2	5,4	—	5,3	3,8	—
9—14 сентября . .	—	5,0	7,0	—	7,2	5,8
26 сентября . . .	7,1	—	—	7,1	—	—

Влажность почвы в пахотном слое 0—30 см, при определении 4 июля 1947 г. на сортоиспытании люцерны двух-трех- и четырехлетнего возраста колебалась от 12,3 до 14,1%, т. е. была равна 80—90% от полной полевой влагоемкости местной светлокаштановой супесчаной почвы.

Определение влажности почвы в 1950 г. проводилось во вторую половину лета также в пахотном слое. Как видно из данных анализа, к концу лета 1950 г. влажность почвы по люцерне и эспарцету не превышала 30—35% от полной полевой влагоемкости, а по эспарцету третьего года жизни была близка к мертвому запасу.

Просохшая почва настолько сильно сцементировалась, что в июле, августе пробы нельзя было откопать лопатой и они вырубались киркой.

В такие резко различные по метеорологическим условиям годы особенно отчетливо проявились различия в образовании и сохранении клубеньков у люцерны и эспарцета.

Методика взятия проб была принята нами следующая: в почву забивался полый разъемный стальной цилиндр с острыми краями с диаметром 25 см, и высотой 30 см таким образом, чтобы анализируемые растения оказались в центральной части цилиндра. Затем лопатой или киркой обкапывалась почва вокруг цилиндра и подрезалась снизу на глубине 30 см. В выкопанном монолите определялись клубеньки на корешках растений центральной части. Затем проводился пересчет числа клубеньков в пахотном слое в среднем на одно растение по нескольким монолитам. Специальный подсчет клубеньков люцерны по слоям почвы показал, что в слое 0—20 см в 1947 г. на одно растение люцерны было 46 клубеньков, в слое 20—40 см — 5, глубже — единичная встречаемость. Таким образом, проба, взятая в слое 0—30 см, захватывает большую часть клубеньков растения.

Принимая густоту травостоя летом и осенью первого года жизни равной примерно 500 тысяч растений на гектар, а на широкорядных посевах семенников второго и третьего года жизни около 150—200 тысяч растений, можно дать приблизительный подсчет общего веса клубеньков на гектар в пахотном слое почвы (табл. 2).

В первом году жизни трав клубеньков образуется мало. В 1947 г. до

Таблица 2

Количество и вес сырых клубеньков на одно растение люцерны и эспарцета в пахотном слое 0—30 см

Год жизни трав	Варианты посева	Люцерна			Эспарцет		
		дата анализа	число клубеньков	вес в мг	дата анализа	число клубеньков	вес в мг
	Богара 1947 г.						
1	Чистый	22.VI	6	9	23.VI	6	34
1	„	14.VI	11	15	—	—	—
2	„	28.V	7	9	—	—	—
2	„	17.VI	9	12	5.VII	147	2770
2	Чистый летний	30.VI	68	200	—	—	—
2	„ „	23.VII	270	380	—	—	—
2	Травосмесь	16.VII	29	37	2.VII	18	330
3	Чистый	14.V	Нет	Нет	—	—	—
3	„	23.VI	4	6	—	—	—
3	„	4.VII	46	60	5.VII	150	2500
3	Травосмесь	2.VII	28	40	—	—	—
4	Чистый	12.VI	—	3	5.VII	15	130
4	„	17.VII	3	4	23.VII	77	430
	Богара 1950 г.						
1	Чистый	30.VII	Нет	Нет	30.VII	2—3	40
1	„	24.VIII	Един.	„	24.VIII	2—3	60
1	„	16.X	Нет	„	16.X	6	50
2	„	28.IV	Един.	„	28.IV	19	350
2	„	26.V	15	22	—	—	—
2	„	27.VII	17	25	24.VII	24	400
2	Чистый летний	27.VII	22	35	—	—	—
2	Чистый	6.IX	6	10	22.VIII	7	160
3	„	28.IV	Един.	—	28.IV	7	100
3	„	18.V	21	30	28.VII	16	150
3	„	28.V	10	15	22.VIII	24	150
3	Чистый летний	23.V	10	15	—	—	—
3	Травосмесь	15.VIII	Нет	Нет	15.VIII	Много	—
4	„	—	—	—	3.V	35	300
4	„	—	—	—	28.VII	50	150

конца мая клубеньков не было ни у люцерны, ни у эспарцета. Петросян [3] отмечала у эспарцета закавказского (Onobr. antaziatica) при посеве нитрагинизированными семенами появление единичных клубеньков через 25 дней в благоприятных условиях Армении, где в первый год было получено два укоса. В суровых условиях засушливого 1950 г. на Карагандинской станции на корнях люцерны почти не образовалось клубеньков в первом году жизни, даже при обработке нитрагином. Эспарцет в июне образовал небольшое количество клубеньков и устойчиво их сохранял до конца вегетации. Но общее количество клубеньков в пересчете на гектар в первом году жизни невелико — у эспарцета 20—25 кг/га, у люцерны около 3—5 кг/га в благоприятный год и не более 1 кг в сухое лето. Во второй год жизни в благоприятных условиях развития на богаре эспарцет может дать до 500 кг клубеньков в пахотном слое, тогда как люцерна только при оптимальных условиях летнего широкорядного посева в 1947 г. дала на богаре 40 кг/га клубеньков, а при обычном весеннем посеве дает на второй год всего 4—9 кг/га.

Результаты наших учетов очень близки к таковым Гельцер [1], которая определяла вес клубеньков в пахотном горизонте при заражении

люцерны заводским нитрагином в 9 кг, при заражении местными клубеньками в 40,7 кг и у контроля — 1 кг/га.

На третий год жизни в условиях засушливого лета люцерна к осени почти полностью теряет клубеньки, восстанавливая их частично на четвертом году жизни лишь при хорошей влажности почвы. Эспарцет в этом отношении сильно отличается: он полностью сохраняет способность энергичного образования клубеньков не только на четвертый год, но даже через 10 лет после посева на богаре.

Значительно активнее идет жизнедеятельность клубеньковых бактерий люцерны в условиях высокой влажности почвы. В центральном Казахстане, начиная с военного времени, все шире распространяется лиманное орошение — самотечный полив больших площадей посева путем затопления весенними паводковыми водами. На регулируемых лиманах вода слоем 20—40 см стоит 3—5 суток в зависимости от культуры и затем сбрасывается на следующий лиман. Данные наших определений подтвердили повышенную активность клубеньковых бактерий после лиманного затопления; в 1947 г. на второгодней люцерне было подсчитано 178 клубеньков на растение с общим весом 290 мг, на люцерне третьего года 40 клубеньков весом 80 мг. Однако у Песчаного эспарцета второго года жизни клубеньков было много больше: в 1947 г. 563 на одно растение общим весом 872 мг, в 1950 г.— 200—300 клубеньков. Таким образом, если максимальное количество клубеньков люцерны второго года жизни на лимане может достигать в пахотном слое почвы 50—60 кг/га, то Песчаный эспарцет в тех же условиях может обеспечить образование 1300—1700 кг/га клубеньков. По данным Гельцер [1], в клубеньках люцерны содержится от 3,5 до 4% азота. Принимая этот коэффициент для пересчета, можно полагать, что Rhiz. meliloti в лучшем случае обеспечивает фиксацию в клубеньках на корнях люцерны 2—2,5 кг азота на гектар, тогда как Rhiz. symplex — 50—70 кг азота, т. е. в 20—25 раз больше.

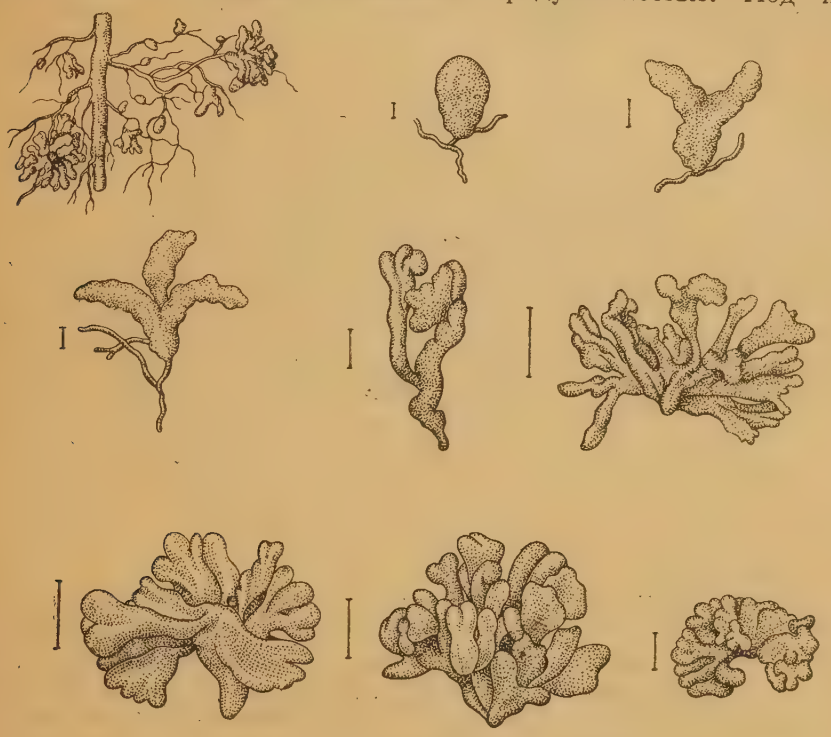
Само собой разумеется, что азот, фиксированный в клубеньках люцерны или эспарцета на день анализа, составляет весьма небольшую долю всего азота, усвоенного растением его листвой, стеблями и корнями в результате симбиоза с клубеньковыми бактериями, и слабо отражает то сильное влияние, которое оказывает активная деятельность клубеньковых бактерий на рост и развитие многолетних бобовых трав.

Как видно из приведенных данных, только второгодняя люцерна на лиманном фоне или при летнем посеве на богаре в год с обильными осадками имеет количество клубеньков на одно растение свыше 100 и с весом 0,2—0,4 г. На весенних богарных посевах люцерны или в травосмесях второго и третьего года жизни число клубеньков снижается до 15—30 и вес их не превышает 0,02—0,06 г. Такое количество клубеньков, очевидно, недостаточно для нормальной жизнедеятельности люцерны.

Совершенно иное положение с Песчаным эспарцетом. Мы уже отмечали, что в лучших условиях культуры — на лимане или в дождливое лето — эспарцет может накопить до 15—17 ц клубеньков и в одних клубеньках иметь 50—70 кг азота, не считая значительно большего количества в корневых остатках. В неблагоприятных условиях среды в засушливое лето, когда жизнедеятельность растений люцерны уже заметно снижена, на корнях эспарцета второго, третьего и четвертого года жизни продолжается энергичное образование клубеньков, достигающих в среднем на одно растение 15—35 с общим весом 0,15—0,40 г, т. е. 300—700 кг/га.

При этом следует подчеркнуть, что даже в 1950 г. на корнях эспарцета образовались крупные разветвленные клубеньки весом до 0,2—0,4 г каждый, тогда как у люцерны гроздевидные клубеньки встречались только на лиманном фоне, а на богаре были мелкие, большей

частью единичные. Многообразие форм клубеньков эспарцета представлено при небольшом увеличении на рисунке (сбоку каждого клубенька линией показаны его подлинные размеры). У эспарцета не наблюдается резкого снижения активности клубеньковых бактерий ни на третий, ни на четвертый год жизни. Следует подчеркнуть, что эспарцет характеризуется устойчивой семенной продуктивностью. Под нашим



Формы клубеньков эспарцета

наблюдением на 10 га посева Песчаного эспарцета на лимане четыре года подряд собирался хороший урожай семян. Вопрос о характере и степени взаимозависимости, с одной стороны, развития мощной листовой поверхности и высокой урожайности семян растений эспарцета, а с другой,— активной деятельности Rhiz. symplex и числа работающих клубеньков требует дополнительного специального исследования, которое начато нашим Отделом. Но взаимная связь перечисленных показателей несомненна.

Для характеристики высокой стойкости Песчаного эспарцета мы можем привести дополнительно интересные данные по одному посеву 1939 г., расположенному на бугре с глубоким залеганием уровня грунтовых вод. Посев был проведен черезрядным способом с междурядиями 30 см в целях залужения на защитной полосе. В продолжение 10 лет эспарцет дважды убирался на семена, в последующем косился на сено. Рядки до настоящего времени сохранились, хотя травостой несколько изрежен; весеннее отрастание было хорошим. Для оценки жизнеспособности этого посева характерно, что даже на одиннадцатом году жизни большинство растений образовало семена. Учет количества клубеньков на этом посеве проводился неоднократно. Приведем некоторые данные. Анализ 9 июля влажного 1947 г. установил, что на восьмом году жизни эспарцета имелось до 250 клубеньков с весом 2,5 г в среднем на растение. Пробы, взятые 29 июля 1950 г., обнаружили, что одиннадцатилетние растения, несмотря на сильную засуху, сохранили по 80 клубеньков со средним весом 1,3 г. Даже в конце вегетации — 23 октября —

было найдено по 18 клубеньков на растение. При этом влажность пахотного слоя почвы была 4,6%, т. е. близка к мертвому запасу. При кратковременном повышении влажности почвы до 6% в результате небольшого дождя одиннадцатилетний эспарцет возобновил рост мелких корешков, на которых были обнаружены молодые клубеньки. Следовательно, в условиях сильной засухи, когда люцерна теряет клубеньки, эспарцет сохраняет значительное количество клубеньков с активно работающими бактериями.

Выводы

Песчаный эспарцет характеризуется исключительной стойкостью к неблагоприятным условиям среды. В крайне засушливой степи Центрального Казахстана с климатом полупустыни в отдельные годы, эспарцет сохраняет высокую жизнеспособность даже после 10 лет жизни. В засушливое лето он формирует мощную листовую поверхность, образует большое количество корней с многочисленными скоплениями активно действующих клубеньковых бактерий, дает устойчивые урожаи семян. Перечисленные показатели дают все основания к ускоренному и широкому внедрению эспарцета в колхозные посевы засушливых степей Заволжья и Казахстана.

Карагандинская
сельскохозяйственная опытная
станция

Получено 20.I.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гельцер Ф. Ю. Новые пути в повышении эффективности клубеньковых бактерий. Сб. «Пути повышения активности клубеньковых бактерий». ВАСХНИЛ, М., 1948.
2. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. Москва, 1949.
3. Петросян А. П. и Мирзабекян Р. О. Морфологические изменения клубеньковых бактерий в клубеньках эспарцета в течение года. Микробиология, VIII, вып. 7, 1939.
4. Федоров М. В. Биологическая фиксация азота атмосферы. М., 1948.

О НЕКОТОРЫХ ОСОБЕННОСТЯХ ФИЗИОЛОГИИ CLOSTRIDIUM PASTEURIANUM

И. Л. Работнова, В. К. Егорова, Г. К. Озолина и *И. К. Елецкий*

Cl. Pasteurianum является одним из немногих микроорганизмов, способных к фиксации молекулярного азота. Среди группы азотфиксирующих организмов он является единственным, осуществляющим этот процесс в анаэробных условиях.

До сих пор подавляющее большинство исследований механизма азотфиксации проводилось на аэробных микроорганизмах — на азотобактере и отчасти на клубеньковых бактериях в симбиозе их с бобовыми растениями.

Исследований, касающихся анаэробных азотфиксаторов, чрезвычайно мало. После классических работ Виноградского [1, 2] и небольшого числа работ, выполненных несколько десятилетий назад [Прингсгейм (Pringsheim [9]); Омелянский [4]; Мак-Кой с сотр. (McCay [7])], можно упомянуть лишь работы Федорова [5] и Розенблюма и Вильсона (Rosenblum a. Wilson [10]).

Это не случайно, так как работа с Cl. Pasteurianum технически весьма сложна. Cl. Pasteurianum очень трудно получить в чистом виде. При выделении из почвы этот микроб всегда сопровождается спутниками. Это обстоятельство отмечал еще Виноградский, описавший две споровые палочки, найденные им в качестве спутников Cl. Pasteurianum. Виноградский предполагал, что у Cl. Pasteurianum могут быть различные спутники, и не приписывал им роли специфических симбионтов, считая, что они лишь содействуют созданию анаэробных условий. «Действие двух бацилл не имеет в себе ничего специфического» (Виноградский [1]). Омелянский также отмечал склонность Cl. Pasteurianum к симбиотическому существованию. Он наблюдал, что накопительная культура, которая велась в лаборатории в течение 10 лет и пересевалась 50 раз, содержала 6 спутников. Омелянский также полагал, что спутники обеспечивают возможность существования анаэробного Cl. Pasteurianum на воздухе, без особых мер для создания анаэробиоза. Видовой состав спутников Омелянским не определялся.

Кроме того, при культивировании в лаборатории Cl. Pasteurianum быстро изменяется, вырождается, что отмечали все авторы, работавшие с этим микроорганизмом.

Столкнувшись с указанными затруднениями при работе с Cl. Pasteurianum, мы вынуждены были детально остановиться на изучении физиологических особенностей лабораторных культур Cl. Pasteurianum.

О симбиотических взаимоотношениях у Cl. Pasteurianum

Мы многократно производили выделение культур Cl. Pasteurianum из одной колонии. Это осуществлялось следующим образом: ставилась накопительная культура на среде Виноградского в пробирках длиной 30 см и 1,5—2 см в диаметре. Заражение производилось почвой. После нескольких пассажей производилась пастеризация культуры, чтобы освободиться от бесспоровых спутников, и затем высев на твердую среду в анаэробных условиях. В качестве твердой среды применялась агаризованная среда Виноградского или ломтики картофеля, натертые ме-

лом. Анаэробиоз достигался одним из следующих способов: 1) откачиванием воздуха и заменой его азотом; 2) применением щелочного раствора пирогаллола; 3) применением увлажненной смеси гидросульфита с содой; 4) применением прорастающих семян овса.

Прорастающий овес энергично поглощает кислород и выделяет CO_2. Последний способ давал наилучшие результаты. Колонии появлялись достаточно быстро и были крупными. Весьма вероятно, что выделяемая овсом углекислота оказывала благоприятное действие на бактерий. О стимулирующем действии CO_2 на самые разнообразные бактерии имеется, как известно, ряд литературных указаний. Через три-четыре дня на анаэробных чашках появлялся рост. Вырастали споровые спутники Cl. Pasteurianum, обычно образующие пленку на поверхности агара, и в местах, свободных от этой пленки, обнаруживались колонии Cl. Pasteurianum кремового цвета, часто с пузырьками газа.

Под микроскопом можно было видеть, что колонии состоят в основном из клостридиальных форм, дающих гранулезную реакцию, и в меньшем количестве из вегетативных клеток, окрашивающихся раствором Люголя в желтый цвет. Из этих изолированных колоний нетрудно было получить культуры, сделав отсев в жидкую среду Виноградского и поместив ее в анаэробные условия.

Нами было выделено большое количество таких культур из одной колонии, причем одна и та же культура проводилась через изолированные колонии неоднократно.

При этом, однако, выяснилось следующее: 1) если из таких культур сделать посев на МПА в аэробных условиях, то через 1—2—3 дня вырастает чистая культура одного вида аэробных споровых спутников Cl. Pasteurianum; 2) если произвести массовый посев из колоний Cl. Pasteurianum в пробирки с жидкой средой Виноградского в анаэробных условиях [1], то брожение наступает не во всех засеянных пробирках. Так, например, при посеве из 11 колоний брожение наступило в 10 пробирках, в другой раз при посеве из 35 колоний брожение наступило в 10 пробирках, и, наконец, в одном из опытов при посеве из 17 колоний брожение наступило в 6 пробирках. Во всех без исключения забродивших пробирках высевом на МПА был обнаружен один и тот же спутник.

Эти наблюдения заставили нас предположить, что спутник Cl. Pasteurianum не является случайным. Очевидно, здесь дело идет о симбиозе.

Тогда мы предприняли обследование 10 образцов разнообразных почв, полученных из различных районов Советского Союза. Мы получали накопительные культуры Cl. Pasteurianum. После окончания брожения производили пастеризацию при 80° в течение 5 минут и делали высев на МПА в аэробных условиях.

Из всех накопительных культур выросли сразу чистые культуры одного и того же спутника. В некоторых случаях он сопровождался Bac. subtilis. По морфологическим и культуральным признакам все 10 культур были совершенно одинаковы.

Это грамположительные палочки, с закругленными концами 1×2—5μ, подвижные. По форме и размерам они неотличимы от вегетативных клеток Cl. Pasteurianum. Споры образуются в центре клетки, при этом спора шире палочки и спороносящая клетка напоминает Clostridium. На агаре рост сероватый, непрозрачный, колонии лопастные, не вполне гладкие. При росте в бульоне сначала возникает помутнение, а затем образуется толстая гладкая пленка и жидкость просветляется. Аммиак не образуется. Нитраты восстанавливаются в нитриты. Молоко

[1] Анаэробиоз устанавливается не сразу, так как поглотители кислорода действуют медленно.

пептонизируется без подщелочения. На желатине при посеве уколом роста нет в течение 30 дней. Сахара не сбраживает с газообразованием. На глюкозе отмечается подкисление, на картофеле — блестящий сероватый налет. По всем этим признакам микроб по определителю Бердже ближе всего подходит к Bac. closteroides, описанному впервые Thornton и Grey [11], причем авторы подчеркивают морфологическое сходство Bac. closteroides с маслянокислыми бактериями. Действительно отличить под микроскопом вегетативные клетки Cl. Pasteurianum от спутников невозможно. Интересно отметить, что при поддержании на МПА культура заметно вырождается. Клетки мельчают (0,6—0,8 μ в поперечнике), биохимическая активность ослабляется, рост на агаре становится более скудным.

Чистая культура Bac. closteroides совершенно не развивается на безазотистой среде Виноградского.

Можно думать, что симбионт создает для Cl. Pasteurianum анаэробные условия. То обстоятельство, что спутник неизменно сопровождает Cl. Pasteurianum и при выделении культур в анаэробных условиях, не противоречит такому предложению. В наших условиях, анаэробиоз никогда не устанавливается сразу. Применяемые нами поглотители кислорода — пирогаллол, овес и особенно гидросульфит — медленно и, очевидно, не до конца поглощают кислород. Поэтому имеются условия для развития аэробного спутника. Правда, в начальном периоде развития культуры в среде нет связанного азота. Очевидно, развитие идет за счет ничтожных примесей, имеющихся в среде. О том, что спутник развивается слабо, свидетельствует тот факт, что мы получаем его изолированные колонии на чашках непосредственно из культур без разведения. Менее вероятно, что спутник снабжает Cl. Pasteurianum питательными веществами витаминной природы.

Физиологические особенности культур Cl. Pasteurianum

При многолетних наблюдениях за лабораторными культурами Cl. Pasteurianum (эти культуры следует считать смешанными, симбиотическими культурами) прежде всего бросается в глаза их свойство изменяться со временем. Изменение выражается прежде всего в том, что резко ослабляется способность микроба к спорообразованию. На это указывал и Перльман (Perlman [8]). Если свежая накопительная культура из почвы обильно образует клостридии с резкой гранулезной реакцией и со спорами, то довольно скоро способность к спорообразованию теряется. Под микроскопом можно видеть почти исключительно вегетативные клетки, окрашивающиеся раствором Люголя в желтый цвет. Эти клетки более тонкие, чем в первоначальной культуре, часто удлиненные и изогнутые. Вторым признаком вырождения является утрата способности к фиксации азота. Это можно проиллюстрировать следующим примером. В сентябре 1947 г. нами были получены две культуры Cl. Pasteurianum из одной колонии: № 6 из огородной почвы и № 7 из чернозема. Данные по размножению и азотфиксации этих культур приведены в табл. 1.

Как можно видеть, культуры усваивают азот, хотя и не очень энергично.

В феврале — марте культура № 6 уже стала слабо развиваться на безазотистой среде Виноградского, но хорошо развивалась при добавлении к среде дрожжевого автолизата (250 г прессованных дрожжей на 750 мл воды). Это можно видеть из опытов, представленных в табл. 2.

Эти опыты показывают, что азотфиксация утрачена полностью. В присутствии органического источника азота — дрожжевого автолизата — бактерии хорошо размножаются, но молекулярного азота не фиксируют.

Таблица 1

Размножение и азофиксация у свежевыделенных культур Cl. Pasteurianum

		День						
		0	2-й	3-й	6-й	8-й	10-й	17-й
Культура № 7	Азот в мг/100 мл	0,0	—	0,6	2,8	3,8	5,6	—
	Клетки в млн./мл	33		43	57	86	110	
Культура № 7	Азот в мг/100 мл	0,0	2,3		2,5	3	3,3	7,0
	Клетки в млн./мл	25	42		55		87	

Таблица 2

Размножение и азотфиксация выродившейся культуры Cl. Pasteurianum № 6 на безазотистой среде и на среде с дрожжевым автолизатом

		День			
		0	2-й	4-й	15-й
Безазотистая среда Виноградского	Азот в мг/100 мл	0	0	0	0,1
	Клетки в млн./мл	0	0	0	9
Та же среда + 0,5 мл автолизата дрожжей на 1 л	Азот в мг/100 мл	2	1,5		1,8
	Клетки в млн./мл	0	0		25
1 мл автолизата на 1 л	Азот в мг/100 мл	2,5	2,2	2,2	1,9
	Клетки в млн./мл	0	29	35	41
2 мл автолизата на 1 л	Азот в мг/100 мл	4,2	4,4	4,1	3,9
	Клетки млн./мл	0	50	47	150

Культура при этом энергично бродит с обильным образованием пены. Чем больше прибавлено автолизата, тем более интенсивно идет брожение. В безазотистой среде Виноградского можно видеть лишь отдельные пузырьки газа.

Интересно отметить, что наличие дрожжевого автолизата в небольшом количестве не угнетает способности к азотфиксации у активной свежевыделенной культуры. Это можно видеть из табл. 3, где приведены данные по азотфиксации у культур № 6 и № 7 в тот период, когда они еще не утратили азотфиксирующей активности. Опыты велись с добавлением небольшого количества дрожжевого автолизата.

Таблица 3

Размножение и азотфиксация свежевыделенных культур на среде Виноградского с добавлением небольших количеств дрожжевого автолизата

			День			
			0	3-й	5-й	7-й
Культура № 6	0,5 мл автолизата на 1 л	Азот в мг/100 мл	0,2	1,5	1,9	—
		Клетки в млн./мл	8	34	50	—
	1 мл автолизата на 1 мл	Азот в мг/100 мл	0,7	1,5	3	4
		Клетки в млн./мл	7	28	41	59
Культура № 7	0,5 мл автолизата на 1 л	Азот в мг/100 л	0,2	—	2	2,5
		Клетки в млн./мл	15	40	48	60
	1 мл автолизата на 1 л	Азот в мг/100 мл	0,9	1,3	3	3,2
		Клетки в млн./мл	27	42	88	97

Как можно видеть, при добавлении дрожжевого автолизата, когда количество азота в среде составляет до 0,2—0,9 мг на 100 мл, фиксация азота достигает от 1,7 (1,9—0,2) до 3,3 (4,0—0,7) мг на 100 мл за 5—7 дней у культуры № 6. Аналогичные факты наблюдались и у культуры № 7.

Что касается действия больших дозировок дрожжевого автолизата на азотфиксацию, то это можно видеть из следующих опытов на другой культуре (табл. 4).

Через три месяца та же культура, хранившаяся в виде спор в отбродившей жидкости, вновь была испытана на способность к азотфиксации на таких же средах с дрожжевым автолизатом. Результаты приведены в табл. 5.

Культура фиксировала азот, но слабее, чем в предыдущем опыте. Еще через месяц опыт был повторен. Результаты приведены в табл. 6.

Как показывают эти данные, культура после хранения резко ослабила способность к фиксации азота, несмотря на наличие в среде дрожжевого автолизата.

Отсюда можно заключить, что утеря способности к азотфиксации не связана с недостатком витаминов, так как в дрожжевом автолизате имеется большое количество различных витаминов.

Естественно возникли следующие вопросы: нельзя ли предохранить культуру от вырождения и каким способом можно возвратить активность выродившейся культуре?

Для азотобактера установлено, что соли молибдена очень резко стимулируют азотфиксацию (Матуашвили [3]). То же известно и для синезеленых водорослей, ассимилирующих азот (Bortels [6]). Действие

молибдена на Cl. Pasteurianum в литературе освещено недостаточно. Имеется лишь один опыт в работе Федорова [5], свидетельствующий о том, что молибден улучшает азотфиксацию. Мы предположили, что может быть, и для Cl Pasteurianum молибден является необходимым для энергичной фиксации азота и может предохранить культуру от вырождения.

Таблица 4

Азотфиксация на средах с большим количеством дрожжевого автолизата

(свежевыделенная культура)

Начальный азот в мг/100 мл	Конечный азот в мг/100 мл: параллельные определения	Конечный азот в мг/100 мл: среднее	Прибыль азота в мг/100 мл
12,2	18,9 19,0 19,0	19,0	6,8
12,2	21,6 21,6	21,6	9,4
23,6	33,6 33,7 33,7	33,7	10,1
46,6	54,5 57,6	57,5	10,9

Примечание. Опыт продолжался 7 дней.

Мы попробовали провести опыты с выродившимися культурами, почти не фиксирующими азота, как это видно из табл. 7.

После хранения этих культур без пересева на среде Виноградского в течение лета они осенью были посеяны на среду с 0,001% $(NH_4)_2MOO_4$, после чего вновь была определена их азотфиксирующая способность. Результаты приведены в табл. 8. Опыт показал, что добавление молибдена способствовало превращению этих неактивных культур в значительно более активные в отношении азотофиксации. Так, например, у культуры № 1 прибыль азота достигла 7,6 мг/100 мл за 7 дней (10,6 мг — 3 мг).

Далее эти три культуры поддерживались как на среде Виноградского с молибденом, так и на среде без молибдена. В последнем случае они через два месяца культивирования вновь утратили способность к фиксации азота.

Таблица 5

Азотфиксация на средах с дрожжевым автолизатом

(трехмесячная культура)

Начальный азот в мг/100 мл	Конечный азот в мг/100 мл	Прибыль азота в мг/100 мл
0,6	7,1	6,5
3,9	7,1	3,2
8,1	12,52	4,4

Примечание. Опыт продолжался 7 дней.

Таблица 6

Азотфиксация на средах с дрожжевым автолизатом

(четырехмесячная культура)

Начальный азот в мг/100 мл	Конечный азот в мг/100 мл	Прибыль азота в мг/100 мл
0,6	3,1	2,5
8,06	8,96	0,9
32,24	25,0	—7,24

Примечание. Опыт продолжался 9 дней.

Нами были поставлены также следующие опыты: были взяты культуры активные и выродившиеся. Они несколько раз пересевались на среде Виноградского с молибденом и параллельно без молибдена с интервалом 6—7 дней. Затем была испытана азотфиксирующая способность этих культур.

Таблица 7

Характеристика неактивных в отношении азотфиксации накопительных культур

№ культуры	N в мг/100 мл	
	Начальный	через 3 дня
№ 1	0,15	0,15
№ 2	1,9	0,5
№ 3	0,5	1,5

Таблица 8

Азотфиксация накопительных культур на среде с молибденом

№ культуры	N в мг/100 мл		
	начальный	через 7 дней	через 3 месяца
№ 1	3	10,6	13,9
№ 2	1,6	3,9	17,2
№ 3	1,9	2,4	7,2

Характеристика азотфиксирующей способности дана в табл. 9.

После нескольких пересевов на средах с молибденом и без молибдена азотфиксация оказалась следующей (табл. 10).

Таблица 9

Азотфиксация у активных и выродившихся культур

Культура	Азотфиксация по ходу развития			
	N в мг на 100 мл			
	начальный	через 3 дня	через 5 дней	через 1 месяц
Активная № 1 . . .	1,8	6,4	—	—
» № 2 . . .	1,5	3,6	5,6	14,0
Неактивная № 4 . .	2,5	1,2	—	3,1
» № 5 . .	1,9	1,9		
» № 6 . .	1,6	1,5		

Таблица 10

Азотфиксация у активных и выродившихся культур после пересевов на среде с Mo и без Mo

Культура	Азотфиксация по ходу развития						
	Среда с Mo				Среда без Mo		
	N в мг на 100 мл						
	начальный	через 3 дня	через 4 дня	через 5 дней	начальный	через 3 дня	через 4 дня
Активная № 1	0,9	—	5,3	—	0,9	2,7	—
» № 2	1,0	3,2	—	—	2,9	1,1	—
Неактивная № 4	0,9	—	—	5,8	0,6	—	1,8
» № 1	—	—	5,0	—	0,9	2,2	—
» № 6	1,0	—	—	7,8	—	—	—

Можно видеть, что культуры, фиксирующие азот после нескольких пересевов на среде без молибдена, теряют способность к фиксации азота. С другой стороны, культуры, перевивавшиеся ранее на среде без молибдена и утратившие способность к фиксации азота, после несколь-

ких пересевов на среде с молибденом восстанавливают способность к азотфиксации. Особенно следует отметить культуру № 1. Эта культура имелась у нас в двух вариантах: с одной стороны, она непрерывно поддерживалась на среде с молибденом, при этом ее активность сохранялась. С другой стороны, она перевивалась на среде без молибдена и утратила свою активность. После возвращения ее на среду с молибденом она вновь восстановила азотфиксирующую способность.

Таким образом, молибден, повидимому, препятствует вырождению культур и возвращает способность к азотфиксации культурам, утратившим ее. Следует отметить, что не во всех случаях действие молибдена бывает столь резко выражено. Иногда культуры, утратившие активность, не восстанавливали ее и после добавления молибдена. Кроме того, мы наблюдали сильное ослабление азотфиксации и при непрерывном поддержании культур на среде с молибденом. Таким образом, отсутствие молибдена не является единственной причиной вырождения культур. Это, очевидно, только одна из причин.

Мы исследовали влияние различных концентраций молибдена на азотфиксацию и размножение Cl. Pasteurianum. Для этого к среде Виноградского добавлялись следующие количества $(NH_4)_2MoO_4$: 0,00001%, 0,0001%, 0,001%, 0,005% и 0,01%. Одновременно ставился контроль без молибдена. Длительность опыта — 6 дней. Нами, конечно, учитывалось количество азота, вносимое с солью молибдена. На 100 мл среды при концентрации $(NH_4)_2MoO_4$ в 0,01% приходилось 0,3 мг азота. Полученные результаты приведены в табл. 11.

Таблица 11

Влияние различных дозировок молибдена на размножение Cl. Pasteurianum и азотфиксацию

Количество соли Mo в %	0,00001	0,0001	0,001	0,005	0,01	Без Mo
Количество N в мг/100 мл	2,8	3,5	6,2	2,4	3,2	4,0
Количество клеток в млн./мл	77	—	93,6	59,2	32	34,4

Аналогичный опыт приведен в табл. 12. Как показывают данные обеих таблиц, оптимальная концентрация соли молибдена — 0,001% или 10 мг/л. Эта доза наилучшая как для фиксации азота, так и для размножения. Можно думать, что молибден действует не только на фиксацию азота, но и на размножение клеток, так как с возрастанием концентрации молибдена параллельно в известных пределах увеличивается и количество азота и количество клеток. Однако при этом не следует забывать, что мы имели дело не с чистой, а с симбиотической культурой, вследствие чего трудно сказать, какой из микробов реагирует увеличением размножения на внесение молибдена.

Таблица 12

Влияние количества соли молибдена на азотфиксацию

Количество соли Mo в мг/л	Начальн. азот в мг/100 мл	Конечн. азот в мг/100 мл	Прибыль азота
0	0,6	0,6	0
10	0,6	6,3	5,7
50	0,6	1,3	0,7

Выводы

1. Cl. Pasteurianum встречается в природе в симбиозе со споровой аэробной палочкой, идентифицированной нами по определителю Бердже как Bac. closteroides. Можно думать, что этот спутник обеспечивает Cl. Pasteurianum анаэробные условия.

2. Ввиду внешнего сходства палочек Cl. Pasteurianum и Bac. closteroides при микроскопическом просмотре в культурах Cl. Pasteurianum, полученных из одной колонии, нельзя обнаружить спутника, тем более что этот спутник содержится в небольшом количестве. Он легко выявляется при высеве на МПА после пастеризации посевного материала.

3. Симбиотическая культура Cl. Pasteurianum при культивировании в лабораторных условиях постепенно теряет способность к спорообразованию. Теряется также способность к усвоению молекулярного азота. Это не сопровождается утратой способности к брожению и размножению: при внесении в среду азота в виде дрожжевого автолизата происходит развитие культуры, однако свободный азот не усваивается.

4. Свежевыделенные активные симбиотические культуры усваивают азот воздуха независимо от содержания связанного азота в среде. Азотфиксация идет при содержании азота в среде до 46,6 мг на 100 мл (в виде дрожжевого автолизата).

5. Добавление к среде солей молибдена до некоторой степени предотвращает быструю утрату способности к азотфиксации и даже способствует восстановлению этой способности. Оптимальная концентрация $(NH_4)_2MoO_4$ или Na_2MoO_4 — 10 мг/л.

Получено 19.I.1951 г.

Московский государственный
университет
Биолого-почвенный институт

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградский С. Н. Исследование ассимиляции микробами свободного азота атмосферы. Арх. биол наук, **4**, 293, 1895.
2. Виноградский С. Н. Cl. Pasteurianum, seine Morphologie und seine Eigenschaften als Buttersäureferment. Ztbl. Bakt. Abt. II, **9**, 43, 1902.
3. Матуашвили С. И. О влиянии бора и молибдена на морфологические и физиологические свойства азотобактера. Микробиология, XVI, вып. 1, 1947.
4. Омелянский В. Л. Связывание атмосферного азота почвенными бактериями. 1923.
5. Федоров М. В. Биологическая фиксация азота атмосферы. М., 1948.
6. Bortels H. Über die Bedeutung des Molybdens für stickstoffbindende Nostocaceen. Arch. Mikrob., X, H. 2, 155, 1940.
7. McCoy E., Higby, Fred E. The assimilation of nitrogen by pure cultures of Cl. Pasteurianum and related organisms. Ztbl. Bakt. Abt. II, 76, 1928.
8. Perlman D. Desthiobiotin and *o*-Heterobiotin as growth factors for normal and degenerated strains of Clostridia. Arch. Biochem., 16, No. 1, 79, 1948.
9. Pringsheim H. Ueber die Verwendbarkeit verschiedener Energiequellen zur Assimilation des Luftstickstoff und die Verbreitung stickstoffbindender Bakterien auf der Erde. Ztbl. Bakt. Abt. II, 21, 673, 1908.
10. Rosenblum E. and Wilson P. Molecular hydrogen and nitrogen fixation by Clostridium. J. Bact., 59, No. 1, 83, 1950.
11. Thornton H. and Grey P. Soil bacteria that decompose certain aromatic compounds. Ztbl. Bakt. Abt. II, 73, 93, 1928.

СТИМУЛЯЦИЯ ДЫХАНИЯ И БИОСИНТЕЗА ВИТАМИНА B_2 У ASPERGILLUS NIGER ПРИ ДЕЙСТВИИ НА НЕГО ЯДОВИТЫХ ВЕЩЕСТВ

Г. С. Китавин

В 1939 г. нами [3] уже были описаны два основных наблюдения в отношении физиологического значения для плесневых грибов рибофлавина, того витамина, наличие которого в этом объекте в те годы еще отрицалось некоторыми авторами (Pett [13], Оппель [8]).

Во-первых, обращало на себя внимание то, что сулема одновременно с усиленным образованием флавина вызывала столь же усиленное продуцирование грибом глюконовой кислоты.

Во-вторых, отравленная ртутью пленка, вместо пониженного дыхания, обнаруживала, наоборот, усиленное сжигание сахара до углекислоты по сравнению с контролем, где не было добавлено ядовитое вещество.

Открытие того, что в простетическую группу глюкозооксидазы входит флавин, подвело солидную базу под наше первое наблюдение относительно взаимосвязи между флавином и образованием глюконовой кислоты. Активность глюкозооксидазы действительно резко возрастает при действии сулемы [7]. Таким образом значение флавина, входящего в молекулу глюкозооксидазы для образования глюконовой кислоты грибом, не подлежит никакому сомнению.

Данная работа посвящена развитию нашего второго наблюдения, а именно вопросу о связи флавина с дыханием гриба при стимуляции дыхания действием ядовитых веществ.

Рибофлавин входит в состав более десятка различных окислительных ферментов и в общей форме вопрос об участии флавина в дыхании клетки не может возбудить сомнений. Это не значит, однако, что мы не должны искать конкретные условия, при которых связь флавина с дыханием проявилась бы достаточно наглядно. Вызвав, например, каким-либо воздействием увеличение флавина в грибе, не будем ли мы наблюдать одновременно увеличения дыхания?

Сам по себе факт увеличения дыхания при действии различных ядовитых веществ обращал на себя внимание многих исследователей с давних пор.

Обширное исследование по влиянию различных механических и химических воздействий на дыхание аспергилла провел в свое время Косинский [12]. Наибольшая стимуляция (около 50%) наблюдалась при добавлении под выросшую пленку гриба 0,1% сернокислого цинка. При добавлении солей железа или марганца также наблюдалось увеличение выделения углекислоты примерно на $^1/_3$. Наконец, при добавлении алкалоидов дыхание повышалось на 15—19%. Автор, очевидно, следуя весьма распространенному в то время, особенно среди немецких биологов, воззрению, пытается приписать увеличение дыхания исключительно раздражающему воздействию химических веществ.

Однако в опытах с цинком, после удаления последнего, повышенное дыхание все же продолжалось, и автор оказался в явном затруднении, пытаясь объяснить повышение дыхания только раздражающим действием цинка.

Палладин [9, 10] совершенно иначе подошел к вопросу о действии ядов на дыхание растений. Он не ограничился простым перенесением понятия о раздражении на данное явление, а проанализировал самое существо вопроса. Считая, что дыхание обусловлено деятельностью дыхательных ферментов, он именно в росте их активности ищет объяснения такого своеобразного действия ядовитых веществ на дыхание растений.

Излагаемые ниже опыты над дыханием гриба были начаты в 1939—1940 гг. и продолжены в 1946—1947 гг. [5, 6].

Гриб культивировался по ранее описанной методике поверхностным способом [3, 4]. Витамин B_2 определялся люмифлавиновым методом [1], против специфичности которого указаний в литературе не имеется. Шкала готовилась облучением раствора кристаллического рибофлавина, полученного из Всесоюзного института витаминов.

Определение поглощения кислорода и выделения углекислоты в процессе дыхания

Для измерения дыхания использовался метод непрерывной подачи кислорода (Солдатенков [11]), при сохранении его парциального давления на первоначальном уровне, разработанный применительно к аспергиллу Журавским [2]. Наиболее распространенный в настоящее время манометрический метод, усовершенствованный Варбургом, повидимому, не совсем подходит к изучению дыхания поверхностных культур плесневых грибов. Так, применение его Варбургом при исследовании угнетения дыхания аспергилла окисью углерода [15] не оказалось успешным.

Как показал Тамия [14], обнаруженное Варбургом угнетение дыхания поверхностных культур аспергилла характерно лишь для погруженных культур.

Так как для наших целей было необходимо измерять дыхание за сравнительно короткие интервалы времени и притом сразу в нескольких вариантах, то кислородные приемники нами (в отличие от прибора, употреблявшегося Журавским) были уменьшены до объема в 100 $см^3$ (деление через 0,1 $см^3$) и смонтированы в числе 6 на одном щитке. Длина каучуковых соединений (вакуумный каучук с внутренним диаметром в 1 мм) не превышала 1 м на один приемник. В отличие от прибора Журавского, стеклянные краны не применялись вовсе и были заменены винтовыми зажимами. Схема установки дана на рисунке.

Для опытов, в которых учитывалось дыхание, культивирование гриба осуществлялось в стаканчиках диаметром 3,2 см и высотой 2,8 см (внутренние размеры). Рост гриба происходил на 10 мл питательного раствора, который заменялся по истечении двух суток на 5 мл 10% раствора сахарозы с добавлением или без добавления ядовитых веществ.

Приемниками, где помещалась культура гриба, у Журавского служили небольшие эксикаторы, пришлифованная крышка которых дополнительно укреплялась еще зажимами. Однако по нашим данным даже употребление наилучшей вакуумной смазки в условиях температуры в 32° не всегда обеспечивает бесперебойное функционирование подобной системы. Абсолютно надежное замыкание системы в наших опытах обеспечивал полусантиметровый слой парафина, поверх корковой пробки, закрывавшей обычный граненый чайный стакан, служивший нам приемником для гриба. Простерилизованные стаканы, закрытые обернутыми в вату корковыми пробками, устанавливались в числе 6 в круглый кристаллизатор, наполненный водой, имеющей температуру 32°. После уравнения температур на дно стаканов наливалось 5 мл однонормального раствора едкого натра, и прямо в щелочь устанавливались стаканы с грибом. Кристаллизатор помещался в большой сосуд с водой, находившийся в термостате. Таким образом, исключались колебания температуры, связанные с началом опыта, и стали возможными кратковременные экспозиции в три-четыре часа. После установки в термостате корковые пробки заливались парафином. Через две — три минуты, после того как температура окончательно выравнивалась и парафин застывал, приемники для грибов соединялись со счетчиками пузырьков, которые, в свою очередь, уже были соединены с приемниками кислорода, и система вступала в действие.

Постановка шести вариантов на дыхание требовала не более 10 минут. Сразу же начинался равномерный ток кислорода, контролируемый счетчиком пузырьков.

По окончании экспозиции кристаллизатор с грибными пленками извлекался из термостата, стаканы с пленками вынимались, а едкий натр смывался дестиллирован-

ной водой в мерную колбу на 100 мл. Прибавлялось 10 мл насыщенного раствора хлористого бария, объем доводился до метки, колбы закрывались резиновыми пробками. После перемешивания и оседания барита (два — три часа) проба в 10 мл титровалась децинормальной соляной кислотой с фенолфталеином в качестве индикатора. Из разности в количестве кислоты (в миллилитрах), пошедш их на титрование в холостом опыте (все те же операции, но в отсутствие грибной пленки) и в анализируемом варианте, вычислялось количество миллиграммов CO_2, выделенное грибной

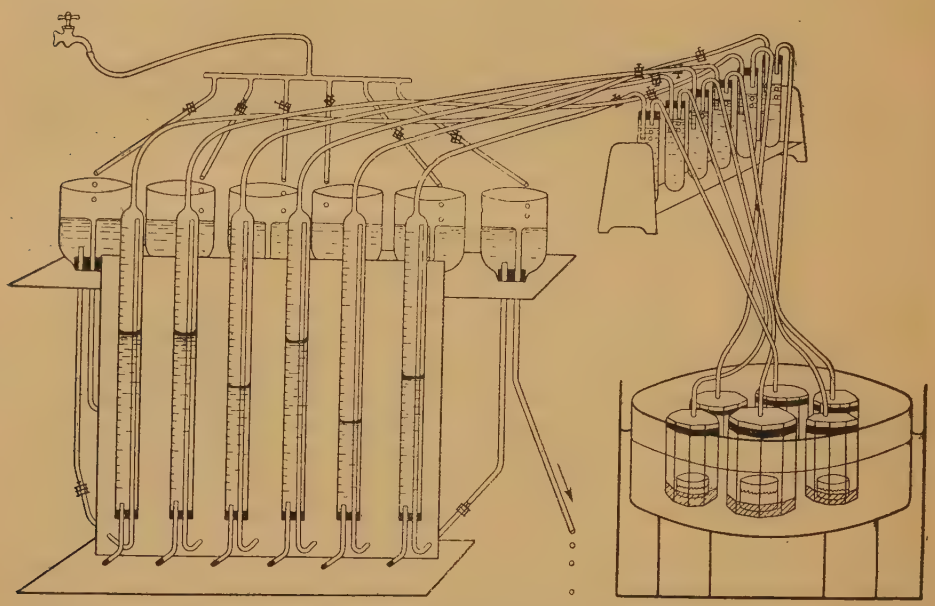


Схема прибора для определения дыхания плесневых грибов по методу Солдатенкова—Журавского за более короткие промежутки времени

пленкой за время экспозиции. Объем поглощенного кислорода определялся по разности уровней в калиброванном кислородном приемнике до и после экспозиции. Объем кислорода приводился к нормальным условиям введением поправки на температуру и барометрическое давление.

Погрешность определений дыхания не выше $\pm 5\%$ как для CO_2, так и для O_2, что является вполне достаточным для такого рода опытов с грибом.

Бесперебойность подачи кислорода и отсутствие иссушающего действия щелочи на пленку при данной конструкции прибора позволяют легко осуществлять выращивание грибной пленки в самом дыхательном приборе. Через двое суток вырастает нормальная сплошная белоснежная пленка.

Данные опыта, приведенные в табл. 1, показывают, что при увеличении содержания флавина в пленке увеличивается интенсивность дыхания независимо от того, каким фактором вызвано это увеличение флавина — азотнокислым аммонием или ядовитым веществом.

Данные, сведенные в табл. 1, представляют собой среднее из трех повторных опытов, в каждом из которых 5 мл 10%-ного раствора сахарозы (с различными добавлениями или без них) подводились под готовые двухсуточного возраста грибные пленки на 13 часов. Азотнокислый аммоний добавлялся до концентрации 0,3%, сулема 10 мг% и сернокислый цинк 0,1%.

За 13 часов после добавления ядовитого вещества накопление флавина грибом не достигает $^1/_4$ максимального [6]. Поэтому стимуляция дыхания в данной серии опытов гораздо меньше той, которую мы получали при 48 часовой экспозиции (эти опыты здесь не приводятся), но все же достаточно закономерна. Интенсивность дыхания на 1 г сухого веса пленки рассчитана по выделению пленкой углекислоты, ибо, по-

Таблица 1

Влияние сулемы, сернокислого цинка и азотнокислого аммония на содержание и дыхание гриба (среднее из трех опытов)

Условие опыта	Содержание рибофлавина в г μ_2					Дыхание			Сухой вес мицелия в % от контроля	Кислотность в % от контроля
	в 1 мл раствора	всего в культуре		в 1 г сух. веса		Q_{CO_2}		RQ		
		абс.	в %	абс.	в %	абс.	в %			
Контроль	0,11	2,20	100	11,8	100	43,1	100	0,78	100	100
Контроль + NH_4NO_3 . . .	0,14	3,15	143	15,2	129	51,7	120	0,80	118	145
$HgCl_2$	0,98	6,99	317	19,7	167	45,7	106	0,82	76	52
$HgCl_2 + NH_4NO_3$	1,23	8,88	402	26,1	221	49,7	116	0,97	75	20
$ZnSO_4$	0,22	2,89	122	12,8	108	47,5	110	0,84	97	48
$ZnSO_4 + NH_4NO_3$	0,31	4,75	215	18,3	155	59,0	137	1,02	125	44

Примечание. Сухой вес гриба в контроле после опыта 139 мг; CO_2 в миллиграммах в 1 час на 1 г сухого веса пленки.

глощение кислорода в значительной степени зависит от интенсивности и характера кислотообразования. Дыхательный коэффициент RQ и отражает (как это видно из таблиц) указанное обстоятельство.

При рассмотрении табл. 1 обращает на себя внимание то, что в случае действия одного азотистого фактора, без добавления ядовитых веществ, степень увеличения дыхания более соответствует степени увеличения флавина, чем при действии ядовитых веществ. Это, вероятно, объясняется тем, что действие ядовитых веществ на грибную пленку вызывает весьма энергичный процесс выделения флавина в раствор. Поэтому к флавину в виде активного ферментного комплекса с белковым носителем примешивается какая-то часть (и притом, очевидно, весьма непостоянная) свободного, не связанного с белком флавина.

Характерно, что это расхождение в увеличении дыхания и содержания флавина особенно значительно в случае наиболее интенсивного выделения флавина в раствор из пленки, т. е. в присутствии сулемы. Все же сам факт одновременного повышения содержания флавина в

Таблица 2

Влияние сулемы на содержание флавина и дыхание

Доза сулемы в мг%	Содержание флавина в μ_2			Дыхание			Сухой вес в мг	Кислотность, мг-экв|мл
	в 1 мл раствора	в 1 г сухого веса		Q_{CO_2}		RQ		
		абс.	%	абс.	%			
К	0,22	12,6	100	38,6	100	0,85	275	0,548
10	2,27	21,2	168	61,6	159	1,04	211	0,313
15	2,03	19,9	158	55,0	142	1,09	192	0,273

Примечание. Сухой вес гриба до опыта 172 мг.

пленке гриба и повышения дыхания при действии ядовитых веществ выявляется с достаточной определенностью.

В табл. 2 приведен один из опытов без смены растворов. После выращивания гриба в течение двух суток на 10 мл питательного раствора под пленку добавлялась вода (контроль), либо раствор сулемы в объеме 1 мл. Через сутки после этого опыт был снят.

Можно видеть, что увеличение интенсивности дыхания к концу этой экспозиции достигает почти 60%.

Далее было исследовано действие ядовитых веществ, которые вызывают уменьшение выделения флавина в раствор при одновременном увеличении содержания флавина в самой пленке. К числу таких ядовитых веществ относится фенол.

Первый же опыт дал вполне четкий результат. Дыхание сильно увеличивалось при одновременном увеличении содержания флавина в пленке гриба и уменьшении содержания его в питательном растворе. Суммарный результат этих опытов представлен в сводной табл. 3. Цифры в скобках указывают число проведенных опытов, из которых получено среднее.

Таблица 3

Влияние фенола на содержание рибофлавина и дыхание
(сводная таблица)

Доза фенола в мг%	Содержание флавина в % к контролю		Дыхание		Прирост сухого веса в %	Кислотность, в %
	в 1 мл раствора	в 1 г сухого веса	Q_{CO_2}	RQ		
К	100	100	100 (11)	0,82	+ 100	100
1	55	113	102 (2)	0,76	+ 94	96
10	55	90	119 (3)	0,77	+ 85	90
50	60	138	155 (5)	0,91	+ 33	63
56	55	208	228 (2)	—	+ 23	—
75	50	222	258 (6)	1,04	+ 9	8
100	75	244	188 (5)	1,03	+ 10	9
200	290	43	21 (3)	1,27	— 7	5
300	290	47	20 (1)	1,20	— 9	5
400	—	45	4 (1)	—	— 6	5
1000	140	30	4 (2)	0,86	— 36	6

Двойному увеличению содержания флавина в пленке при 75—100 мг% фенола соответствует двойное увеличение интенсивности дыхания гриба. Резкое уменьшение содержания флавина в пленке при 200—300 мг% фенола сопровождается столь же резким падением дыхания.

Один из опытов, на основании которых составлена данная сводная таблица, приведен в табл. 4. Продолжительность опыта 24 часа. После двух суток роста на 10 мл питательного раствора произведена смена на 5 мл 10%-ного раствора сахарозы + 0,3% азотнокислого аммония с добавлением или без добавления фенола. Дыхание определялось за последние четыре часа опыта.

Из табл. 4 следует, что не только интенсивность дыхания, рассчитанная на 1 г сухого веса, но и общее количество выделенной углекислоты и поглощенного кислорода в расчете на одну пленку при добавлении 0,1% фенола значительно выше, чем в контроле.

Таблица 4

Влияние фенола на содержание рибофлавина и дыхание

Условия опыта	Содержание флавина в μг			Q_{CO_2}	Дыхание культуры за последние 4 (20—24) часа опыта на одну пленку гриба		Сухой вес в мг	Кислотность мг-экв/мл
	в 1/мл раствора	сумма на всю культуру	в 1 г сухого веса		CO_2 в $см^3$	O_2 в $см^3$		
До смены I	—	—	30,0	—	—	—	92	—
До смены II	—	—	28,5	—	—	—	90	—
Контроль I	0,20	5,29	26,5	60,3	20,9	21,5	161	0,64
Контроль II	0,20	4,85	24,5	63,1	21,3	21,6	157	0,64
0,5% фенола I	0,07	4,33	29,0	69,8	20,1	22,3	134	0,47
0,5% фенола II	0,07	4,55	29,2	64,1	18,9	21,8	140	0,53
0,1% фенола I	0,04	6,43	56,0	143,0	31,1	29,2	101	0,05
0,1% фенола II	0,04	6,56	58,0	138,0	32,2	31,5	109	0,08

Выводы

1. Сулема, сернокислый цинк и фтористый натрий в соответствующих концентрациях увеличивают интенсивность дыхания Asp. niger. При этом содержание рибофлавина в 1 г сухого вещества мицелия выше, чем в контроле. Азотнокислый аммоний действует в том же направлении. Фенол в концентрации 0,05—0,1% увеличивает вдвое интенсивность дыхания гриба. Содержание флавина при этом также увеличивается в два раза.

2. Разработана схема прибора, позволяющая измерять дыхание плесневых грибов по методу Солдатенкова — Журавского за более короткие интервалы времени (четыре часа).

Кишиневский государственный университет

Получено 6.III.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Букин В. Г. Витамины. Пищепромиздат, 1940.
2. Журавский Г. И. О газообмене Aspergillus niger при образовании лимонной кислоты. Микробиология, VIII, 414, 1939.
3. Китавин Г. С. Влияние ртутных солей на образование кислот и витамина B_2 у Aspergillus niger. Биохимия **4**, 283, 1939.
4. Китавин Г. С. Получение кристаллического рибофлавина при действии солей ртути на Aspergillus niger. ДАН СССР **28**, 518, 1940.
5. Китавин Г. С. Биосинтез витамина B_2 при действии ядовитых веществ на плесневой грибок Aspergillus niger. Диссертация, Ленинградский гос. университет, 1948.
6. Китавин Г. С. К вопросу о факторах образования витамина B_2 грибом Aspergillus niger. Учен. зап. Кишиневского университета, III вып. биол. наук, 1951.
7. Китавин Г. С. Активность глюкозооксидазы и каталазы при действии сулемы на Aspergillus niger. Биохимия, **16**, 1951.
8. Оппель В. В. Химия и биохимия флавинов. Сб. под. ред. А. А. Шмидт, Витамины и витаминизация, **1**, 5, 1936.

9. Палладин В. И. Дыхание растений как сумма ферментативных процессов. Зап. АН СССР физ.-мат. отд., сер. 8, 20, вып. 5, 1, 1907.
10. Палладин В. И. Действие ядов на дыхание растений. Изв. АН СССР, 401, 1910.
11. Солдатенков С. В. и Кубли М. Г. Ускорение созревания томатов кислородом. Тр. Ленингр. об-ва. естествоисп., 66, вып. 2, 163, 1940.
12. Kosinski I. Die Atmung bei Hungerzuständen und unter Einwirkung von mechanischen und chemischen Reizmittel bei Aspergillus niger. Jahrb. wiss. Bot., 37, 137, 1902.
13. Pett L. Lactoflavin in microorganisms. Bioch. J., 29, 937, 1935.
14. Tamiya H. Atmung, Gärung und sich daran beteiligenden Enzyme von Aspergillus. Adv. Enzym., 7, 183, 1942.
15. Warburg O. und Kubowitz F. Wirkung des Kohlenoxydes auf die Atmung von Aspergillus oryzae. Bioch. Z., 214, 24, 1929.

НЕКОТОРЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ МУСКАРДИНЫ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА В ГРУЗИНСКОЙ ССР

Т. Т. Ованесян

Целью нашей работы являлось исследование возбудителя мускардины у тутового шелкопряда в Грузинской ССР и выяснение некоторых его биологических особенностей для разработки эффективных мер борьбы.

Такие исследования представляют интерес и для энтомологов, занимающихся разработкой биологической борьбы с насекомыми — вредителями леса и сельскохозяйственных культур, так как мускардина поражает многих вредных насекомых (монашенку, виноградную листовертку и др.).

В восьми районах Грузинской ССР нами были отобраны трупы зараженных мускардиной червей и выделена чистая культура возбудителя болезни.

Во всех случаях возбудителем мускардины оказался гриб Beauveria bassiana.

По морфологическим особенностям выделенные нами культуры отличались лишь размером спор: так, например, споры культуры одного района равны 2,2 μ, а споры другого — 2,8 μ. Однако эти отличия невелики и находятся в пределах встречающихся у вида Beauveria bassiana размеров спор от 2 до 3 μ

Выделенные нами штаммы несколько различаются по культуральным свойствам; на сусло-агаре одни культуры (№ 8) образуют густой войлокоподобный мицелий с обильным плодоношением, другие (№ 7) дают нежный воздушный мицелий и слабое спорообразование, некоторые (№ 3, 4 и 5) образуют складчатые колонии, а (№ 1 и 6) — густое спороношение и низкий скудный мицелий.

По мере роста различия между отдельными штаммами уменьшаются. При посеве культур на одну чашку колонии в дальнейшем сливаются, и различия между ними делаются мало отчетливыми.

По биологическим свойствам отдельные культуры иногда отличаются друг от друга.

Ниже приводим результаты наших исследований.

Отношение гриба Beauveria bassiana к температуре

Рост и развитие гриба Beauveria bassiana при различных температурах испытывались на сусло-агаре. Оказалось, что рост возможен в интервале температур между 7° и 42°. Однако большая часть культур прекращает рост значительно раньше, и только одна дает слабый рост при 42°, у этой культуры спорообразование прекращается при 36°.

Оптимальная температура для гриба +26, +27°; при этой температуре спорообразование начинается уже на третий день после посева. По данным Арно (Arnaud [3]) развитие гриба наблюдается и в более широких температурных пределах, а именно от 6 до 44°; оптимальная температура роста, определенная этим автором, совпадает с нашими данными.

При температуре от 19 до 24° гриб растет и развивается хорошо, но спорообразование запаздывает на одни сутки. С понижением температуры спорообразование еще более замедляется: при 12° споры появляются через 6 дней, а при 7° через 13—15 дней.

Сравнивая наши исследования с результатами, полученными Михайловым [2] при изучении среднеазиатских культур, мы отмечаем существенные расхождения в биологии гриба. По данным Михайлова, гриб при 15° не спороносит вовсе и не растет при температуре выше 33°. Между тем мы при этой температуре наблюдали лишь угнетение развития, что выражалось в сильном запаздывании спорообразования; последнее прекращается вовсе при 36°; рост наблюдается лишь за счет бесплодного мицелия. Оптимальная температура роста для грузинских и среднеазиатских культур одна и та же.

Определив нижнюю температурную границу роста при +7°, мы должны, однако, отметить, что некоторые культуры способны прорастать и при +3°, однако с опозданием, лишь на 60-й день после посева. При сравнении наших культур с культурой, полученной из Средней Азии (Ташкент), оказалось, что споры последней также обладают способностью прорастать через 60 дней при +3°.

Скорость прорастания спор зависит от температуры. Так, например, споры на пивном сусле при 26—27° прорастают через 6 часов, при 23—25°— через 9 часов, а при 20°— через 17 часов.

Влияние влажности и солнечного света на прорастание и жизнеспособность спор Beauveria bassiana

Споры Beauveria bassiana очень чувствительны к количеству влаги в воздухе. При 100% относительной влажности отмечается прорастание спор гриба даже без наличия питательной среды и вне тела хозяина (шелкопряда).

Содержание в воздухе влаги ниже 70% неблагоприятно для гриба; продолжительное пребывание спор при 60%-ной относительной влажности резко снижает их жизнеспособность. Наиболее благоприятной для паразита нужно считать влажность от 80 до 100%, когда сохраняется жизнеспособность и патогенность его. Влияние влажности проверялось в эксикаторах (по Кожанчикову [1]).

Ниже приводим результаты 30-дневного хранения спор мускардины в различных условиях влажности. Проверка жизнеспособности проводилась методом проращивания спор в капле пивного сусла.

Таблица 1

Результаты 30-дневного хранения спор при температуре 20—21°

Относительная влажность воздуха в %	100	90	80	70	60
Количество проросших спор в %	98	98	93	77	2

С целью приближения опыта к природным условиям, когда влажность воздуха может меняться от кратковременных дождей или утренних рос, мы смачивали споры паразита в течение семи дней по два часа водой и вновь переносили в испытываемую атмосферу (т. е. при 50 и 60% влажности); повышения жизнеспособности спор при этом не наблюдалось. Более продолжительное смачивание (по 5 часов в день) повышает жизнеспособность спор на 30%.

Солнечный свет губительно действует на споры Beauveria bassiana.

Облучение солнечным светом спор двухнедельного возраста в течение одного часа снижает их жизнеспособность на 50%, а двухчасовое — на 95%. Трехчасовое облучение убивает все споры гриба.

Старые споры более чувствительны к действию солнца и погибают уже через два часа.

Таблица 2

Количество проросших спор Beauveria bassiana в процентах после облучения солнечным светом при температуре 43—45°

Продолжительность облучения в часах	Споры двухнедельные		Споры годовалые	
	чистой культуры	из погибших гусениц	чистой культуры	из погибших гусениц
1	56	59	14,5	0
2	2,3	4,5	Единич.	0
3	0	0	0	0

Это биологическое свойство гриба можно использовать на практике для обеззараживания выкормочного инвентаря. Сами черви в условиях Грузии плохо переносят облучение, так как температура на солнце значительно выше той, какую шелкопряд может вынести без ущерба.

Вирулентность культур

Вирулентность отдельных культур сильно различается. При заражении одним и тем же количеством спор (35 спор в поле зрения при окуляре 10х и объективе 40х) мы получили в опыте различный процент гибели гусениц.

При заражении культурами одних районов погибло 40—45%, других — 25%, культуры некоторых районов вызывали гибель у 10—5% червей.

Среднеазиатская культура оказалась наиболее вирулентной, от нее погибло 80% гусениц. Отмечено также, что продолжительность инкубационного периода у одних культур равна 6—7 дням, а у других не короче 8 дней.

Таким образом, в результате наших исследований выяснилось, что биологические особенности гриба Beauveria bassiana меняются в зависимости от климатических условий района. Учитывая это обстоятельство, можно полагать, что при разработке мер борьбы с заболеванием необходимо опыты проводить (или их уточнять) непосредственно в тех районах и с теми штаммами, с которыми намечается борьба.

Искусственное заражение

Патогенность гриба Beauveria bassiana проверялась нами путем искусственного заражения шелковичных червей различных пород и различного возраста.

Экспериментальное заражение проводилось опрыскиванием листьев шелковицы споровой суспензией гриба десятидневного возраста и последующим скармливанием зараженных листьев шелкопряду.

Опыт проведен при 21° и 100% относительной влажности воздуха (в эксикаторах) в двух сериях — по породам и возрастам. В каждую серию опыта было включено по 40 штук червей данной породы по всем пяти возрастам.

Испытаны были следующие породы: багдадская, багдадская × сагами, сагами, японская бивольтинная 110, ТбилНИИШ № 1 и УС. Черви заражались тотчас же после линьки.

Разницы в восприимчивости к заболеванию среди указанных пород нами не наблюдалось, тогда как возраст имел определенное значение: гусеницы первых двух возрастов несколько слабее заражаются мускардиной, в то время как в старших возрастах при том же количестве инфекции от мускардины гибли все 100% гусениц.

Выводы

1. Возбудителем мускардины тутового шелкопряда в Грузинской ССР является гриб Beauveria bassiana.

2. По своим морфологическим и физиологическим особенностям грибы различных районов Грузинской ССР несколько отличаются друг от друга.

3. Возбудитель мускардины Beauveria bassiana растет в температурных пределах от 7 до 42°. Спорообразование гриба наблюдается при температурах от 7 до 36°.

Оптимальные температурные условия роста и развития лежат в пределах 26—27°; при этих температурах гриб дает массовое спорообразование на третий день после посева.

4. Гриб весьма чувствителен к относительной влажности воздуха. Оптимальной влажностью для гриба можно считать 80—100%. По мере понижения влажности воздуха наблюдается снижение жизнеспособности спор: при хранении спор в условиях 60% относительной влажности воздуха через 30 дней оказались жизнеспособными только 2% спор.

5. Прямые солнечные лучи в течение одного часа снижают жизнеспособность спор на 50%, а за два часа — 98%. Трехчасовое облучение убивает все споры гриба.

6. Различные культуры Beauveria bassiana сильно отличаются друг от друга по вирулентности. Среднеазиатская культура гриба значительно вирулентнее грузинских.

7. Различные породы тутового шелкопряда одинаково восприимчивы к мускардине.

Тбилисский научно-исследовательский институт шелководства

Получено 16.III.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кожанчиков И. В. Экспериментально-экологические методы исследования в энтомологии. Изд. ВАСХНИЛ, 1937.
2. Михайлов Е. Н. Болезни тутового шелкопряда. Ташкент, 1945.
3. Arnaud G. et Arnaud M. La lutte contre les insectes par les champignons entomophytes. C. R. Acad. Sci., IX, 863, 1923.

НОВЫЙ МЕТОД ВЫДЕЛЕНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ КЛЕТОК МИКРООРГАНИЗМОВ

К. В. Косиков

Известные в микробиологии методы выделения отдельных клеток, при которых имеется полная гарантия, что образовавшаяся в результате выделения колония произошла действительно из одной клетки, чрезвычайно трудоемки. В качестве примера можно привести предложенный Молотковским [3] способ выделения микроорганизмов при помощи гарпун-пипетки. Чтобы выделить клетку этим способом, необходимы довольно сложные приспособления к манипуляции (станок на столике микроскопа, пипетка, укрепляющаяся при помощи муфты к другому микроскопу, и т. д.). Не менее сложен и метод выделения одной микробной клетки, предложенный Маром [2]. Автор применил капилляры, приготовленные из пастеровских пипеток. В капилляры набирается сильно разведенная эмульсия клеток в среде с агаром или желатиной. Концы капилляра запаиваются. Выросшие из клеток колонии пересеваются в соответствующую среду.

Микробиологи широко пользуются методом выделения чистых культур дрожжей из одной клетки, предложенным Гансеном, и капельным методом, предложенным Линднером. Оба эти метода описаны в руководствах по микробиологии, и поэтому нет необходимости описывать их здесь. Но вследствие сложности и трудоемкости этих методов опытному микробиологу удается выделить максимум один-два десятка клеток за целый день работы.

Комарова [1] предложила пользоваться для выделения культур из одной клетки специально изготовленной для этой цели пипеткой. Надо полагать, что применение специальной пипетки в значительной степени улучшит капельный метод.

Предлагаемый нами метод выделения отдельных клеток существенно отличается от описанных до сих пор. Он дает возможность быстро и с гарантией изолировать необходимое количество клеток, если величина их не меньше 1—2 μ. По простоте и доступности этот метод может быть широко применен в лабораторной практике.

Описание метода

Влажная камера для изоляции и необходимый инструментарий

Основным оборудованием, необходимым для применения описываемого метода, является влажная камера для изоляции. Изготовить эту камеру может любой стеклодув. Она состоит из стеклянного кольца, диаметр которого должен соответствовать размерам покровного стекла. Для обычно применяемых покровных стекол размером 18 × 18 мм диаметр кольца должен быть 15—16 мм. Высота кольца 15 мм, толщина стенки 1 мм. Сбоку в этом стеклянном кольце делается отверстие, к которому припаивается стеклянная трубочка диаметром 10 мм. Длина этой трубочки 15 мм, толщина стенки около 1 мм. Края приготовленного таким образом кольца шлифуются так, чтобы высота его по окружности со всех

сторон была одинакова (рис. 1, б). Укрепляется кольцо на предметном стекле при помощи специально приготовленной смеси воска с вазелином в пропорции: 3 части воска, 1 часть вазелина. Кольцо с боковой трубочкой, укрепленное на предметном стекле и покрытое покровным стеклом, представляет собой влажную камеру (рис. 1, а), готовую к использованию.

Кроме влажной камеры, необходимы: специальный шпатель для равномерного распределения суспензии из подлежащих изоляции клеток (рис. 2, а), блок (рис. 2, б) и платиновая петля (рис. 2, в). Блок приготовляется из воска, что дает возможность легко придать ему желательную форму, применительно к тому месту на столике микроскопа, где он устанавливается. Кроме того, благодаря своей вязкой консистенции, воск хорошо фиксируется на столике микроскопа. В верхней части блока делается выемка, на дно которой вставляется тонкая деревянная пластинка также с небольшой выемкой (рис. 3). Эта пластинка с выемкой предохраняет блок от расплавления во время выделения клеток стерилизованной на пламени горелки платиновой петлей и улучшает скользящую поверхность выемки блока. Деревянной пластинкой может служить стенка спичечной коробки. Для изготовления платиновой иглы берется проволока диаметром 0,15—0,20 мм. Если нет такой тонкой проволоки, то можно воспользоваться и

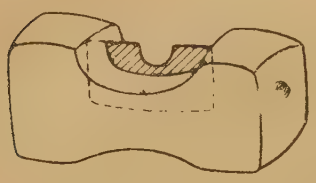


Рис. 3. Блок из воска и вставленная в него деревянная пластинка с выемкой

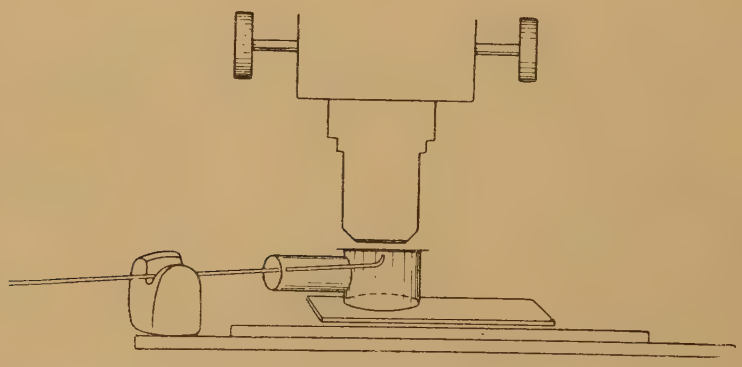


Рис. 4. Расположение влажной камеры и блока на столике микроскопа и положение платиновой петли при изоляции конидий

более толстой, утончив конец ее до соответствующего диаметра. Утончение конца проволоки легко достигается прокатыванием его между двумя плоскостями, например ручкой ланцета на матовом стекле или какой-либо другой твердой, но не скользящей поверхности. Конец иглы шлифуется так, чтобы он был со всех сторон гладким. Шпателем для равномерного распределения мазка может служить кусок обычного покровного стекла со шлифованным краем. Размер шлифованного края (которым распределяется мазок) — 10—11 мм. Стекло это следует укрепить на конце какого-либо металлического стержня, чтобы в процессе работы можно было его стерилизовать на пламени горелки. Нами для этой цели использован удлинитель для циркуля. После того как смонтированная камера и блок установлены на столике микроскопа (рис. 4), необходимо приготовить мазок из подлежащих изоляции клеток.

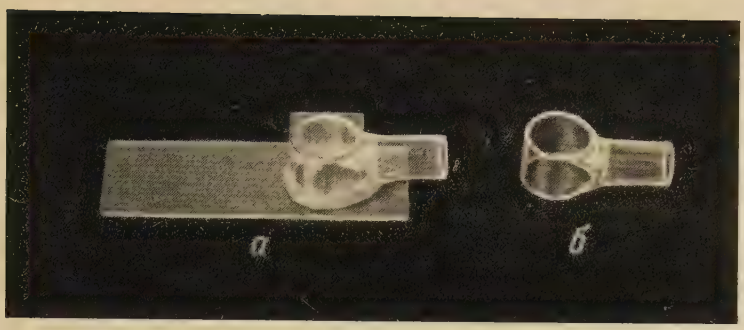


Рис. 1. *а* — смонтированная влажная камера для изоляции клеток; *б* — стеклянное кольцо с припаенной к нему боковой трубочкой

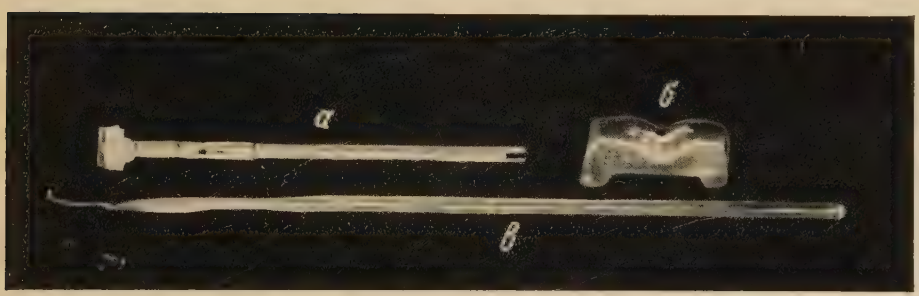


Рис. 2. *а* — специальный шпатель для равномерного распределения суспензии клеток на покровном стекле; *б* — блок из воска

Приготовление мазка

Для приготовления мазка необходимо приготовить какую-либо питательную прозрачную среду с 1% желатины. Такое количество желатины делает среду густой, но не застывающей при комнатной температуре. В пробирке с такой средой (0,5—1,0 мл) приготовляется суспензия подлежащих изоляции клеток. Густота суспензии устанавливается опытным путем. Для начинающего лучше готовить негустую суспензию, чтобы клетки на мазке распределялись реже. Обычно достаточно одной небольшой петли на указанное количество среды. Соответствующего размера ушком платиновой иглы небольшая капелька суспензии наносится на тщательно промытое, обезжиренное и стерилизованное на пламени горелки покровное стекло.

Практика работы показала, что не обязательно изготовлять суспензию из подлежащих изоляции клеток в пробирке. Можно наносить на покровное стекло маленькую капельку чистой среды с 1% желатины и в эту капельку непосредственно вносить соответствующее количество (очень небольшое) подлежащих изоляции клеток из культуры с твердой среды.

Специальным шпателем, также простерилизованным на пламени горелки, в центре покровного стекла, из капельки суспензии, путем равномерного распределения ее на поверхности покровного стекла, делается мазок размером 10 × 10 мм, после чего покровное стекло кладется на влажную камеру мазком вниз. Кольцо камеры предварительно смазывается вазелином, который укрепляет покровное стекло на камере. На чистом, хорошо обезжиренном покровном стекле получается тонкий, равномерный мазок; толщина слоя этого мазка обычно не превышает диаметра клетки. Это чрезвычайно важное обстоятельство, на которое всегда необходимо обращать внимание, так как только при такой толщине мазка клетки распределяются одним слоем. Этим, во-первых, клетки фиксируются на том месте мазка, где они оказались при распределении суспензии шпателем. Во-вторых, все клетки, находящиеся в поле зрения микроскопа, располагаются в одной плоскости и все они поэтому хорошо видны. Исключение представляет тот край мазка, где останавливается и отрывается шпатель при распределении суспензии на покровном стекле. Здесь обычно образуются микрокапли, в которых клетки могут располагаться в разных плоскостях. Этот край мазка не может быть использован для изоляции клеток. Для поддержания соответствующей влажности в камере в боковую трубочку камеры вставляется полоска фильтровальной бумаги, смачиваемая дестиллированной водой. При удачном мазке клетки равномерно распределяются. Выбирая ту из клеток, которая расположена на достаточном расстоянии от других, устанавливают ее в центре поля зрения микроскопа и приступают к изоляции и пересеву ее в пробирку со средой. Для изоляции дрожжевых клеток требуется увеличение в 150 раз (например, объектив 10х, окуляр 15х).

Изоляция клеток при помощи платиновой иглы

Платиновая петля или игла (с загнутым вверх концом) вводится в камеру через боковую трубочку и устанавливается в центре поля зрения на расстоянии 1—2 мм от поверхности мазка. Ручка петли кладется в выемку на блоке, который в данном случае служит точкой опоры (рис. 4). Чтобы быстрее установить конец петли в поле зрения, можно воспользоваться пучком света, проходящим через конденсор микроскопа. Попав в пучок света, петля освещается интенсивнее. При определенных, несколько затемненных условиях пучок света можно видеть простым глазом.

Устойчивость и четкость движения петли достигаются следующим положением руки: ручка платиновой петли зажимается между большим,

указательным и средним пальцами, а безымянный палец упирается в край столика микроскопа. Локоть руки фиксируется на краю стола. Затем, наблюдая через окуляры за загнутым концом платиновой петли и производя осторожные движения петлей в горизонтальном положении, устанавливают конец петли в центре поля зрения, под соответствующей клеткой. Легким движением руки вниз прикасаются концом петли к клетке, после чего переводят петлю в исходное положение. Если наблюдавшаяся клетка отсутствует, значит она попала на конец платиновой иглы; если она осталась на месте, повторяют еще раз то же движение.

Контролируя глазами движение петли и наблюдая за расположенными в поле зрения клетками, можно с полной уверенностью производить изоляцию одиночных клеток. После того как намеченная клетка захвачена петлей, последнюю под контролем глаз вынимают из камеры и клетку переносят на питательную среду в пробирку. Для изоляции следующей клетки всю операцию повторяют. С одного удачно сделанного мазка можно пересеять до 100 и более клеток. При некоторой тренировке можно за час работы выделить около 50 клеток.

Преимущество описываемого метода заключается еще и в том, что имеется возможность выбрать для изоляции те клетки, которые желательны для опыта. Для изолированных клеток очень важно подобрать хорошую питательную среду.

Более детальная разработка техники переноса клеток показала, что при соблюдении оптимальных условий в работе можно значительно повысить процент их прорастания. Этот процент, естественно, зависит от общей жизнеспособности клеток данного штамма на данной среде. При изоляции вегетативных дрожжевых клеток процент их прорастания доходит до 30—50 и выше. Эти цифры по существу не отличаются от таковых, получаемых при изоляции клеток при помощи микроманипулятора.

При выделении спор или конидий, являющихся более устойчивыми к влиянию внешних факторов (в данном случае — прикосновение платиновой иглы), чем вегетативные клетки, процент жизнеспособных клеток значительно повышается.

Во время работы необходимо следить за состоянием клеток на покровном стекле во влажной камере при выделении их. Если мазок с клетками «сухой», необходимо закрыть отверстие влажной камеры на некоторое время ватой, обильно смоченной водой. В этих условиях вокруг клеток конденсируется вода. Она создает условия большей подвижности для клетки при прикосновении к ней платиновой петлей. Это уменьшает возможность травматизации в момент захватывания клетки с мазка.

Для большей уверенности в том, что переносимая клетка осталась на среде в пробирке, следует прикоснуться концом петли к поверхности среды несколько раз в различных местах.

Необходимо следить за тем, чтобы поверхность платиновой иглы, соприкасающаяся с клеткой, была гладкой. Образующийся иногда на ней налет от частичек среды при прокаливании иглы на пламени удаляется осторожным трением по чистому матовому стеклу.

Институт генетики
Академии Наук СССР
Москва

Получено 24. VII. 1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Комарова Л. И. Пипетка для выделения культур из одной клетки. Микробиология, XVIII, вып. 4, 1949.
2. Мар Г. И. Новый метод выделения одной микробной клетки. Лабораторная практика, № 6, 1938.
3. Молотковский Г. Х. Гарпун-пипетка для выделения микроорганизмов. Лабораторная практика, № 6, 1938.

ПОЛУЧЕНИЕ ОДНОСПОРОВЫХ КУЛЬТУР ПЕНИЦИЛЛОВ С ПОМОЩЬЮ СУХОЙ ИГЛЫ

А. П. Ордин

При работе с грибами микологу очень часто приходится прибегать к получению односпоровых культур. Для этого существует два основных метода: метод разведения и метод сухой иглы. Остальные методы являются обычно видоизменением этих двух основных. При работе с мелкими объектами чаще используют метод разведения. Но в том случае, когда необходимо споры перенести на твердую питательную среду в чашку Петри или на предметное стекло и рассадить их в определенном порядке и на нужном расстоянии (например, при получении анастомозов между прорастающими спорами одного или двух штаммов пенициллов), сделать это методом разведения трудно, а чаще вообще невозможно. Поэтому в подобных случаях приходится прибегать к методу сухой иглы, используя микроманипулятор. Но в связи с тем, что не всегда представляется возможность использовать микроманипулятор и работа с ним довольно кропотлива и требует наличия определенных навыков, мы рекомендуем для подобных целей применять приспособление, которое было изготовлено нами для получения односпоровых культур пенициллов методом сухой иглы без помощи микроманипулятора.

Вследствие очень маленьких размеров спор пенициллов их можно рассматривать только при больших увеличениях микроскопа, а необходимые для этой цели объективы обладают коротким фокусным расстоянием, и манипулировать иглой в данном случае не представляется возможным.

Изготовленное же нами приспособление позволяет использовать большие увеличения микроскопа и избежать неудобства, связанные с коротким фокусным расстоянием.

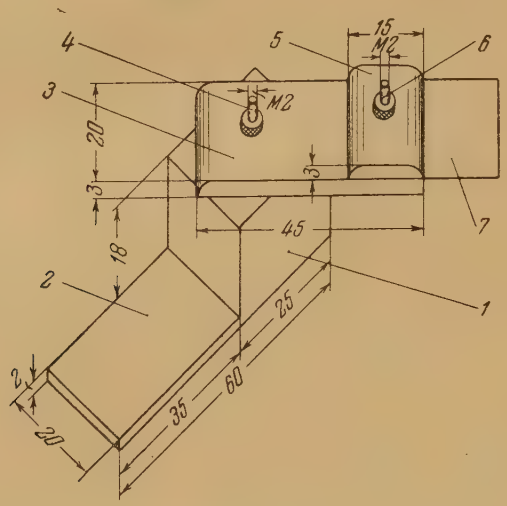
Приспособление (рисунок) состоит из следующих частей: деревянного блока (*1*) с отходящей от него в нижней части пластинкой (*2*) для закрепления приспособления на предметном столике микроскопа при помощи зажима, двух деревянных пластинок неодинаковой длины, большая (*3*) из которых подвижно соединена с блоком посредством винта (*4*), меньшая же пластинка (*5*) закрепляется вторым винтом (*6*) на конце большей, с верхней ее стороны. Между ними закрепляется покровное стекло (*7*). Подвижность большей пластинки служит для удобства установки покровного стекла под объективом микроскопа.

Иглы изготовляются из стеклянной палочки (лучше тугоплавкого стекла) оттягиванием конца над пламенем горелки. Для работы удобнее, чтобы длина иглы была не более 8 см и кончик ее был по возможности тоньше.

Перед работой иглы и покровные стекла стерилизуются.

Споры наносятся на нижнюю поверхность покровного стекла, закрепленного между двумя пластинками, и покровное стекло при помощи большей пластинки подводится под объектив. Расстояние между предметным столиком микроскопа и покровным стеклом зависит только от высоты блока, что позволяет свободно оперировать иглой при больших увеличениях микроскопа.

Во избежание соприкосновения со стеклом всей поверхности иглы она подводится к нему под углом 10—20°. Спора берется кончиком иглы. Чтобы избежать попадания на иглу других спор при обратном движении иглы, споры наносятся на покровное стекло таким образом, чтобы они отсутствовали на нем со стороны движения иглы. После того как спора



взята иглой, последняя просматривается под микроскопом, и, если на ней находится только одна спора, она уколом иглы высаживается в нужное место на поверхность питательного агара.

При известном навыке это приспособление позволяет в течение часа изолировать 10—15 спор.

Для приобретения навыка мы рекомендуем вначале работать при малом увеличении, используя такие крупные объекты, как споры Ascobolus, Coprinus, Sordaria и другие, и лишь потом перейти к работе при большом увеличении с более мелкими объектами.

Выводы

1. Предлагаемое приспособление позволяет получать односпоровые культуры пенициллов и других грибов, имеющих очень мелкие споры, с помощью сухой иглы, не применяя микроманипулятора.

2. При наличии известных навыков данное приспособление позволяет в течение часа выделить 10—15 спор

Московская станция
Всесоюзного института защиты растений

Получено 26.VIII.1950 г.

О СВЯЗИ НАУКИ С ПРОИЗВОДСТВОМ[1]

В. М. Богданов

Исследовательская работа в области микробиологии — науки, тесно связанной с проблемой изобилия продуктов в нашей стране, должна быть направлена на разрешение насущных интересов промышленности и сельского хозяйства. Она должна не только помогать в работе сегодняшнего дня, но и указывать перспективу на будущее.

Связь науки с производством может осуществляться в разнообразных формах.

В настоящей статье мы хотим ознакомить с работой в данной области, осуществляемой Всесоюзным научно-исследовательским институтом молочной промышленности.

Своей работой Институт охватывает цельномолочную, маслодельную и молочноконсервную отрасль промышленности. Тематика Института составляется в соответствии с запросами промышленности, и темы считаются выполненными только после их внедрения в производство. Обязательным является, чтобы каждая законченная исследовательская работа включала результаты, полученные не только в лабораторных, но и в производственных условиях. Ни в какой мере нельзя признать правильной наблюдающуюся у некоторых научных работников тенденцию создавать в лабораториях «заводские условия», не выезжая на производство. Необходимо помнить, что заводские условия в значительной степени отличаются от лабораторных, и неудачи, нередко наблюдающиеся при внедрении выполненных тем, часто зависят от того, что не было проведено надлежащей производственной проверки. Сказанное особенно относится к лабораториям, снабжающим заводы чистыми культурами микроорганизмов. Закваски, дающие прекрасные результаты в лабораторных условиях, нередко быстро теряют свою активность на заводе. Попытки объяснить это неумением со стороны производственников обращаться с заквасками не могут считаться серьезными. Закваски, которыми снабжается промышленность, должны обязательно подвергаться периодической производственной проверке, чего, к сожалению, не соблюдают лаборатории, снабжающие закваскими молочную промышленность.

Предложенный Кудрявцевым метод непрерывной селекции заслуживает определенного внимания. Этот метод следовало бы проверить в различных производственных условиях.

Формы связи работников научно-исследовательских институтов с производством разнообразны, но они обязательно должны включать непосредственную помощь производству и работникам промышленности, которая осуществляется: 1) проведением систематического контроля качества продукции, выпускаемой заводами; 2) консультациями по различным вопросам, интересующим производство; 3) предоставлением практики в лабораториях Института для повышения квалификации инженерно-технических работников заводов.

В качестве примера можно привести помощь Института Рогачевскому

---

[1] Данная статья печатается в порядке обмена опытом новаторов производства.

молочно-консервному заводу. На этом заводе возник порок в производстве — вспучивание сгущенного молока с сахаром («бомбаж»). Выезд сотрудника бактериологического сектора Института позволил установить наличие дрожжевой инфекции, обнаружить источники ее и быстро устранить возникший порок.

На 1952 г. Институтом заключены два договора по содружеству с Руднянским молочно-консервным заводом и Московским молочным комбинатом им. Горького.

Помимо этого, Институтом ведется постоянный контроль качества продукции, выпускаемой молочно-консервными заводами. В случае снижения качества продукции Институт сигнализирует об этом заводу; при расхождении в результатах анализов представитель завода выезжает в Институт для проведения повторных исследований.

Чрезвычайно важной является непосредственная помощь передовикам промышленности. Это позволяет быстро апробировать то или иное предложение, помочь в его доработке и последующем внедрении в производство.

В 1951 г. начальником цеха завода «Молочное» Вологодской области, А. М. Мироненко был предложен новый пищевой и лечебный препарат (при желудочно-кишечных заболеваниях) — сухая ацидофильная простокваша. Институтом был проконтролирован состав микрофлоры данного продукта, были даны указания о необходимых изменениях и оказана помощь в организации широкой проверки лечебного действия препарата.

Инженер Киевского треста маслопрома А. Я. Дуденков предложил метод комбинированного сквашивания сливок, повышающий вкусовой букет кислосливочного масла. Институт подробно ознакомился с сущностью предложения, проверил его в производственных условиях и предложил автору дальнейшее направление в работе с целью более широкого применения нового метода.

С целью популяризации достижений стахановцев и передовиков промышленности Институт в 1951 г. приступил к изучению и обобщению их опыта.

Одной из форм связи науки с производством является руководство работой молочноиспытательных лабораторий, подчиненных областным трестам. Через эти лаборатории Институт производит проверку отдельных методов и результатов научно-исследовательских работ перед их внедрением в промышленность. В последние годы ряд молочноиспытательных лабораторий принимал участие в проверке следующих работ, выполненных Институтом.

1. Объективные методы определения стойкости сливочного масла. Качество масла определяется в настоящее время без учета стойкости его при хранении. Разработанные Институтом методы дают возможность судить о длительности сохранения первоначальных свойств масла.

2. Ускоренный метод определения свежести и стойкости молока. Быстрое определение свежести молока и возможной его стойкости при доставке на заводы имеет большое значение для молочной промышленности. Институтом предложено использовать для этой цели индикатор бромкрезолпурпур; данный метод позволяет через один час получить данные о стойкости молока и о его бактериальной загрязненности.

3. Применение дрожжей при выработке масла. Институтом подобраны штаммы дрожжей, задерживающие плесневение масла и повышающие его стойкость при хранении. Промышленность ежегодно вырабатывает значительное количество масла с дрожжами на заводах, отдаленных от баз, а также и по заказам отдельных ведомств.

Выработка данного масла проводится под руководством Института через молочно-испытательные лаборатории.

Помимо перечисленного, необходимо как можно шире популяризировать результаты научно-исследовательской работы путем: 1) докладов на производственно-технических конференциях; 2) издания технической литературы и опубликования статей в периодической печати; 3) участия в проведении курсовых мероприятий по повышению квалификации работников промышленности.

Трудно переоценить важность указанных мероприятий. Они позволяют ознакомить инженерно-технических работников промышленности с новейшими достижениями науки и проводить курсы на высоком уровне. При этом устанавливается личный контакт работников науки и промышленности, который безусловно имеет большое значение, так как способствует совместному разрешению различных вопросов, возникающих в процессе работы.

В заключение хочется указать еще на одну крайне желательную форму содружества в работе. Речь идет о контакте в работе между отраслевыми институтами и институтами Академии Наук. Этот контакт не следует рассматривать как подмену работы отраслевых институтов работой институтов Академии Наук. Некоторые вопросы требуют глубокой теоретической проработки, которая нередко бывает затруднительной для отраслевых институтов. В данном случае содружество с Институтом микробиологии Академии Наук окажет большую помощь в разрешении поставленных задач.

В качестве примера можно привести выдвигаемую Институтом тему по изучению свойств и практического значения дрожжей, встречающихся в молоке и молочных продуктах. Вследствие малой изученности данного вопроса Институту молочной промышленности одному будет трудно разрешить эту практически важную задачу.

Методическая помощь Института микробиологии Академии Наук в проведении данной темы была бы крайне желательна.

Всесоюзный научно-исследовательский
институт молочной промышленности
Москва

Получено 4.IV.1952 г.

СИСТЕМАТИКА ВИРУСОВ В СОВРЕМЕННОЙ ЛИТЕРАТУРЕ[1]

В. Л. Рыжков

Из всех тезисов, которые могут быть выдвинуты в данной статье, по крайней мере один, как мы думаем, не вызовет ни у кого возражений. Он сводится к положению, что дело систематики вирусов находится не в стадии завершения, а только в самом своем начале. В настоящее время создаются только самые первые наброски системы вирусов, для построения которой в сколько-нибудь завершенном виде мы пока не располагаем самым главным — достаточным фактическим материалом. Отдавая себе отчет в таком положении вещей, нам кажется, что мы выполним свою задачу, если постараемся возможно четко формулировать проблемы, которые стоят перед систематиком вирусов, возможно хладнокровно обсудить трудности и наметить пути решения отдельных вопросов. Нам кажется также при обсуждении данной проблемы, как и при обсуждении многих других научных проблем, очень часто гораздо полезнее четко формулировать, в чем состоит наше незнание, чем прикрывать его скороспелыми мнениями. Значение научных гипотез очень велико, еще больше значение научной фантазии, однако только при одном условии, чтобы гипотезы и фантазии были стимулом к собиранию фактов и доказательств, а не служили источником самоуспокоения, видимостью разрешения научной задачи. Мысль, которую мы хотим здесь выразить, с предельным совершенством нашла выражение в словах нашего великого химика Менделеева [7], которые мы принимаем к руководству в дальнейшем изложении: «Воздерживаясь от резкого и одностороннего суждения о таких сложных вопросах, как те, которые представляются здесь на каждом шагу, я желал бы только поставить читателя на разные точки воззрения, могущие по моему мнению уяснить связь описываемых здесь явлений с совокупностью других, более разработанных данных нашей науки, и, если мне удастся показать не только интерес, но и важное значение поднятых здесь вопросов, то я буду считать свое дело счастливо выполненным».

Самая возможность системы вирусов наподобие системы животного и растительного мира может быть подвергнута серьезнейшим сомнениям. В настоящее время мы знаем, что строение по крайней мере некоторых простейших вирусов резко отличается от того строения, которое мы привыкли наблюдать у организмов и которое определяется понятием протоплазмы. Что это положение справедливо, станет ясным, если вспомнить, что частица вируса мозаичной болезни табака, как и частица некоторых других фитопатогенных вирусов, вовсе лишена воды и обнаруживает правильность строения, свойственную кристаллам. Естественно поэтому, что некоторые систематики микробов решительно отказываются включать в систему простейшие из вирусов [5]. Признание простейших из вирусов «обыкновенными веществами» приводит довольно значительное число ученых к мнению, что такого рода вирусы могут возникать в макроорганизме в результате нарушения в нем обмена веществ. Если по крайней мере некоторые вирусы — вещества, подобные обыкновенным белкам, и к тому же могут возникать при функциональных рас-

[1] Печатается в связи с дискуссией, проводимой журналом «Микробиология» по проблеме неклеточных форм у микроорганизмов.

стройствах в организме, то, само собой разумеется, к этим вирусам не применимо ни понятие вида, ни принципы филогенетической систематики.

Насколько нам известно, автор этой статьи впервые поставил четко вопрос об эволюции вирусов ([4] 1942) и дал обоснование применимости понятия вида к вирусным белкам ([17] 1947). Понятие вида к вирусным белкам без всякого обоснования и обсуждения было, однако, еще раньше применено Холмсом ([30], 1939). Следуя эколого-географическому принципу, изучая связи, в которые вирусы вступают с различными видами, мы пришли к выводу об эволюционном происхождении вирусных белков и о применимости к ним понятия вида. Позднее тот же эколого-географический подход привел к сходным выводам Бернета ([28], 1946). Приоритет русской науки в данном вопросе удивительным образом игнорируется редактором и автором предисловия русского издания этой книги ([1], 1947). Надо отметить, что Бернет почти не обсуждает проблемы специально в применении к фитопатогенным вирусам, вследствие чего применение им к этим вирусам понятия «организм» остается довольно голословным.

В течение долгого времени наиболее просто организованные вирусы игнорировались систематикой. Замечательный вклад в систему вирусов был сделан Провачеком ([41], 1907), но он ограничивается выделением группы хламидозоа, т. е. вирусов, имеющих элементарные тельца и образующих их колонии в клетках. В тех же рамках классификации «видимых» вирусов остается Липшютц ([35], 1909). Этой же традиции следует в своей интересной работе Мошковский, который пишет: «По нашему мнению недопустимо соединять в одну группу вперемежку столь разнородные «сущности», как нуклеопротеиды мозаики табачных листьев, тельца оспы, возбудителей желтой лихорадки, ящура и т. д.» ([8], стр. 7, 1945). Этот автор ограничивает свою задачу систематикой внутри хламидозоа, т. е. относительно крупных цитропных паразитов, включая сюда главным образом вирусы, имеющие элементарные тельца. Исключение автором сделано для вируса бешенства, существование элементарных телец у которого, как известно, до сих пор не доказано. Таким образом, в 1945 г. еще не было попытки дать полную систему вирусов и вне системы оставалась фактически большая часть вирусов, поражающих животных и человека. В 1939 г. Холмс [30] предложил систему вирусов растений, однако положил в ее основу не свойства этих вирусов, а симптомы, вызываемые ими у растений. Рыжков [17] выступил с критикой системы Холмса, требуя единой филогенетической системы вирусов. В 1948 г. Холмс [31] распространил свои антинаучные приемы системы вирусов на вирусы, патогенные для животных и человека.

Автор этой статьи подразделил тип вирусов на классы, а также дал диагнозы порядков вирусов, поражающих животных и человека, и предложил номенклатуру для большей части возбудителей вирусных заболеваний животных и человека ([18], 1949; [19] 1950). Жданов и Коренблит ([3], 1950) выступают с проектом системы вирусов, в котором дается характеристика их типа и перечисляются низшие систематические единицы, однако эти авторы не дают никакой характеристики перечисляемых ими систематических единиц, и вся «система» авторов редуцирована до номенклатурного списка, в котором вирусы распределены по порядкам и семействам, подобно тому как и Рыжков сделал в заключительной части своей статьи.

В цитированных выше работах подробно изложены доводы, на основании которых мы позволили себе применять понятие вида к вирусным белкам и рассматривать их как продукт эволюции. И здесь невозможно возвращаться к этому вопросу, тем более что, как нам кажется, в настоящее время среди советских ученых, вероятно, мало сторонников представления о вирусе как об «обыкновенном веществе». Это не снимает, однако, вопроса о том, можно ли такую разнородную группу, как вирусы, объединять в одну систематическую единицу. Крайние представители этой систематической группы — вирус мозаичной болезни табака, на строении частицы которого мы остановились выше, с одной стороны, и с другой стороны,— гиганты в мире вирусов, принадлежащие к группе пситтакоза. Мы стали на путь объединения всех вирусов в тип Ivanovskya, предпочитая это название названию «Vira», уже по одному тому, что слово вирус не может быть употреблено по-латыни во множественном числе [39]. Мы исходили при построении типа из следующих соображений.

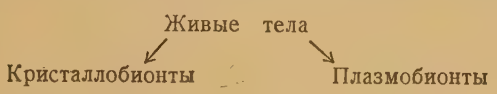
Несмотря на большие различия, все вирусы имеют между собой много сходного, существенно отличающего их от микробов. Вирусы характеризуются следующими чертами: их строение проще клеточного, у большей части вирусов даже невозможно заподозрить существование ядра, у вирусов отсутствуют вакуоли, столь характерные для протопластов, часто отсутствуют оболочки. Там, где эти оболочки есть, повидимому, они существенно иные, чем оболочки у клеточных организмов. Достаточно упомянуть, что вирусы обнаруживают очень высокую устойчивость к глицерину, к которому чувствительно большинство микробов, и эта чувствительность, несомненно, связана с водоизвлекающей активностью глицерина. В пользу того, что оболочка вирусов, там где она у них есть, существенно иначе построена, чем оболочка клеточных организмов, говорит также необычайная устойчивость вирусов к растворителям липоидов. Простота строения вирусов связана с простотой их химического состава. Многие вирусы вовсе не имеют липоидов, без которых немыслима протоплазма. Большинство вирусов имеет только одну из нуклеиновых кислот — дрожжевую или тимонуклеиновую, тогда как в протоплазме всегда имеются обе нуклеиновые кислоты. Вирусы бесспорно не имеют многих ферментативных систем, которые встречаются в каждой протоплазме (например, протеиназы). В соответствии с последним обстоятельством вирусы не размножаются вне клеток, и культивирование их на искусственных питательных средах до сих пор не удалось.

Вопрос о способах размножения вирусов заключает в себе еще много неясного. Некоторые морфологические наблюдения указывают на способность даже мельчайших вирусов размножаться делением. С другой стороны, экспериментальные данные побуждают некоторых исследователей допускать особые способы размножения даже для таких относительно крупных вирусов, как вирус гриппа или фаг (переход в так называемую растворимую, авирулентную фазу). В связи с характеристикой типа вирусов нельзя не остановиться на его месте в природе. Давно уже стало очевидным, что клетка не является простейшей формой жизни, и проблемы эволюции клетки ставились многочисленными авторами. В частности, Козо-Полянский ([6], 1924) считал, что бактерии и синезеленые дробянки имеют более простое строение, чем клетка, обозначая этот тип организации, как цитоды. Рыжков ([10], 1927) посвятил целую статью эволюции клетки и вопросу о доклеточных формах жизни, пытаясь разобраться в нем, само собой разумеется, на уровне того фактического материала, которым мы располагали 25 лет назад. В 1929 г. [11] тот же автор рассматривает ультрамикробов как доклеточные формы жизни: «Организмы с доклеточным строением можно вслед за Козо-Полянским назвать цитодами. Ультрамикробы, вероятно, и есть цитоды (стр. 56)».

Общеизвестно, что работы О. Б. Лепешинской, в которых она сообщает о происхождении клеток из живого вещества, очень сильно способствовали оживлению интересов к доклеточным формам жизни.

Существование форм жизни более простых, чем клетка, потребовало понятия, которое объединило бы все эти формы. Давно существующий термин «протопласт», казалось бы, пригоден для этого. Понятие о протопласте может объединить все формы жизни, как бы они просты ни были, если только они имеют протоплазматическую структуру. Изучение вирусов показало, однако, что существуют формы жизни еще более простые, которым невозможно приписать протоплазматическую структуру. К числу таких форм относятся кристаллические частицы вируса мозаичной болезни табака. Они не имеют не липоидов, ни воды, являющихся постоянными составными частями протоплазмы, а также проще по своему строению, чем протоплазма. В мире вирусов, наряду с формами жизни более простыми, чем протоплазма, имеются также формы, кото-

рые по своему строению, повидимому, приближаются к протопластам. Мы имеем в виду крупные вирусы типа пситтакоза и т. п. Вследствие этих различий в строении вирусов мы уже в 1944 г. [15] подразделяли вирусы на вирусные белки и элементарные тельца и некоторое время склонялись к тому, чтобы весь тип вирусов подразделить на два подтипа: Crystallobionta и Plasmobionta. Это подразделение должно было отражать существование в мире вирусов наряду с формами более простыми, чем протопласты, формы, имеющие строение протопластов. Мы отказались, однако, от подразделения вирусов на два подтипа, так как, во-первых, и кристаллобионты и плазмобионты встречаются внутри одной и той же естественной группы вирусов (внутри одного и того же класса) и так как, во-вторых, строение вирусных частиц высших вирусов представляет много разнообразия и еще неизвестно, не существуют ли здесь различные переходные формы между строением кристаллобионтов и плазмобионтов. Поэтому названное подразделение скорее является подразделением типов строения живых тел, чем систематических единиц, тем более что в понятие «плазмобионты» входят не только вирусы, но и все более высокоорганизованные живые существа. Таким образом, мы можем различать следующие типы строения форм жизни:



Вирусы устанавливают связь между двумя типами организации живых тел, так как простейшие из них принадлежат к кристаллобионтам, а наиболее сложные обладают явными признаками плазмобионтов. Огромное значение кристаллических и паракристаллических структур даже для протоплазмы высших организмов неоднократно подчеркивалось автором (см. например, его высказывания в связи с работами О. Б. Лепешинской ([20], 1951).

Ни одна крупная систематическая единица не может включать совершенно однородный материал, поэтому и в мире вирусов естественно встречаются весьма различные ступени организации живого вещества. Единство всей группы вытекает из существования различных градаций сложности организации, которые лежат между крайними пределами типа. В настоящее время не нашлось критерия для того, чтобы провести границу в мире вирусов, имеющую столь принципиальное значение, что вирусы пришлось бы разделить на два или более самостоятельных типа. Конечно, необходимо делать поправку, связанную с огромными пробелами наших знаний, и невозможно отрицать, что может быть в дальнейшем тип Ivanovskya удастся подразделить или из него будут выделены отдельные группы, подобно тому как возбудитель перипневмонии рогатого скота в свое время был исключен из вирусов и стал типичным представителем цистоцетов.

Любопытно отметить, что из соображений, ничего общего не имеющих с наукой, Тролл ([47], 1951) настаивает на принципиальном разграничении мелких вирусов и вирусов средних размеров от вирусов крупных. Он считает, что объединение всех этих вирусов, облегчило бы представление о происхождении живого из неживого. Исходя из идеалистических позиций, автор считает подобное происхождение иррациональным. Этот известный неоплатоник и идеалист в общем правильно нащупал материалистическое значение открытия мира вирусов и наличие в нем всех градаций от нуклеопротеида к протопласту и, обеспокоенный этими новыми фактами, пытается рассуждениями о необходимости строго различать мелкие и средние вирусы от вирусов крупных скрыть от нас грандиозную картину единства природы. Увы, на пути всех попыток, подобных попытке Тролла, лежат именно эти «средние» вирусы,

обеспечивающие непрерывность морфологического ряда разнообразных и качественно своеобразных форм в мире вирусов. Мы не можем провести границу между разными группами вирусов, пользуясь критерием размеров, также не можем это сделать, исходя из химического состава, потому что, наряду с вирусами, очень богатыми липоидами, мы можем различать вирусы, чрезвычайно ими бедные и вовсе от них свободные. Сходство вирусов в остальных отношениях уже было охарактеризовано выше.

Вирусы хорошо отграничиваются от других форм жизни, имеющих сходные с ними размеры. Следуя довольно старой традиции ([34], 1930), Жданов и Коренблит [3] без достаточного основания отнесли риккетсии к вирусам. Все исследователи риккетсий подчеркивают большое сходство их строения со строением бактерий. Особенно убедительны в этом отношении рисунки Гильды Сикора [44], 1942. Данные этого автора подтверждаются Здродовским ([4], 1948). В электронный микроскоп обнаружено, что риккетсии имеют хорошо сформированные капсули, подобные тем, которые известны у бактерий. В отличие от вирусов риккетсии лучше размножаются в тканях, находящихся в состоянии отмирания, чем в тканях вполне жизнеспособных. Наконец, они обнаруживают газообмен вне организма, чего мы не знаем у вирусов. Отсутствие сходства в обмене веществ риккетсий и вирусов подчеркивается также новейшими исследованиями ([40], 1952).

Не будем здесь касаться мало изученных бартонелий. Электронно-микроскопические наблюдения обнаруживают, что палочкообразные бартонелии будто бы состоят из отдельностей, подобных элементарным тельцам некоторых вирусов. Нуждаются в проверке данные о возможности культивирования этих паразитов крови на искусственных питательных средах.

Особый интерес представляют цистоцеты. Необычайный полиморфизм этих организмов и исключительная простота их строения, наряду с наличием в этой группе не только паразитических, но и свободно живущих форм, делают вероятным, что цистоцеты наиболее близко стоят к самым истокам жизни. Цистоцеты хорошо отличаются от вирусов не только строением, но также и тем, что их удается культивировать на искусственных питательных средах.

Различные авторы придают разный ранг группе вирусов. Холмс в своих первых работах вирусы рассматривал как особое царство (Kingdom: Vira) и подразделял его на отделы (Division). В дальнейшем он, однако, низвел группу вирусов до порядка (Order: Virales). О порядке Biovirales говорит также Торнбери ([46], 1941). Мак Кинни ([36], 1944) относит вирусы к царству растений как особый тип. Нам кажется вполне обоснованным придать вирусам ранг типа. Эта группа объединяет весьма разнообразные формы жизни, которые невозможно вместить в рамки одного класса и тем более порядка. Кроме того, мы не могли бы в настоящее время вирусы отнести к какому бы то ни было типу, так как не можем даже определить, относятся ли они к растениям или к животным или занимают совершенно особое место, будучи непосредственно связанными с простейшими формами жизни, от которых произошли и растения и животные.

Необходимо теперь перейти к подразделениям типа Ivanovskya. Существует традиция делить вирусы на вирусы высших растений, вирусы бактерий и вирусы животных и человека. Это подразделение принято Холмсом (1934), Торнбери (1941), Ждановым и Коренблитом (1950), Эндрюсом ([27], 1951). Жданов и Эндрюс пытаются обосновать это подразделение. Они считают, что вирусы представляют собой первичную форму жизни и что они на самой заре своего существования (однако надо думать уже после того, как они породили животных и растения) сделались паразитами и в силу древности этого паразитизма распались на названные выше группы.

Мы считаем описанное здесь подразделение вирусов по месту их обитания, а не по их антинаучным свойствам. Оно и не применяется

никогда в систематике. Мы знаем, например, что актиномицеты поражают и человека, и картофель, но никому не придет в голову относить эти разные виды актиномицетов к разным классам. Чрезвычайно характерно, что ни Жданов, ни кто другой из сторонников оспариваемого нами подразделения вирусов не дают диагноза соответствующей группы вирусов, иными словами, не пытаются дать ответ на естественный вопрос: чем же отличаются вирусы высших растений, бактерий и животных кроме места их обитания? Таким образом, рассматриваемое здесь подразделение вирусов покоится на ничем не подкрепленной произвольной гипотезе о древности дивергенции вирусов в соответствии с пресловутыми царствами животных и растений. Когда мы указывали, что некоторые вирусы растений легко размножаются в насекомых-переносчиках этих вирусов и, следовательно, в такой же мере обитают в животном, как и в растении, или же, что вирусы полиэдрических болезней, поражающие разнообразных представителей класса насекомых, очень близки к вирусным нуклеопротеидам, паразитирующим в растениях, нам говорят, что некоторые вирусы растений могли вторичным образом приспособиться к обитанию в животных, но тогда где же критерий того, где имеем вирус растений и где вирус животных и которое из этих обитаний первично или вторично. Где гарантия того, что взаимные переходы из одной сферы обитания в другую сферу не происходили так часто, что утрачена всякая возможность руководствоваться первичным обитанием при систематике вирусов. Сторонники критикуемых здесь воззрений должны во всяком случае перечисленные вопросы обсудить на основе фактического материала. Каково было бы наше представление, например, о системе позвоночных, если мы их классифицировали на основе сферы их обитания, тогда, бесспорно, самым крупным представителем рыб был бы кит, а летучая мышь была ближе к колибри, чем к млекопитающим. Мы не хотим здесь высмеивать ничьей точки зрения, но мы предполагаем, что делать исключения в принципах систематики для вирусов нельзя на основе голых предположений. Следует отметить, что на странность подразделения вирусов по месту их обитания обращает внимание также Руска ([42], 1950).

В настоящее время хорошо охарактеризована сравнительно небольшая группа вирусов растений. Это — те из них, которые получены в виде очищенных нуклеопротеидов и изучены при помощи электронного микроскопа. Особенности этих вирусов не дают никакого права считать, что они характерны для всех вирусов растений вообще. Последние электронномикроскопические находки указывают на существование среди вирусов, поражающих растения, и более крупных и может быть более высоко организованных (например, вирус желтой карликовости картофеля, имеющий в поперечнике до 110 mμ). С другой стороны, среди вирусов, поражающих животных, наилучше изучены самые крупные, они действительно очень сильно отличаются от примитивных вирусов, поражающих растений. Однако животные и человек поражаются также такими вирусами, как вирус ящура и вирусы обширной группы полиомиелита. Частица этих вирусов мельче частицы большей части вирусов, поражающих растения. Морфологически эти вирусы под электронным микроскопом существенно не отличаются от шарообразных частиц многих вирусных нуклеопротеидов, поражающих растения. Естественно подразделять вирусы не на основе априорных предположений, а на основе обнаруживаемых в опыте и наблюдении их свойств. Именно такая попытка сделана нами.

Приводим здесь подразделение типа вирусов на классы.

1-й класс Eucrystallinae. Тонкие палочки и шарики, имеющие относительно простую внутреннюю упорядоченность, свойственную кристаллам. Легко складываются в нити и в кристаллоподобные агрегаты, а также часто образуют настоящие кристаллы. В состав входит

дрожжевая нуклеиновая кислота. Хорошо изучены только некоторые представители этого класса, поражающие растения. Представители, поражающие животных и человека, пока не получены в достаточно чистом виде, хотя по размерам и наличию дрожжевой нуклеиновой кислоты должны быть, повидимому, отнесены к этому классу. Имеющиеся данные о кристаллизации вируса полиомиелита нуждаются в подтверждении.

2-й класс Pseudocrystallinae. Довольно толстые палочки, заключенные в сложное образование, которое у одного рода внешне напоминает кристалл (полиэдр) и состоит, кроме палочек, из более низкомолекулярного белка и оболочки. В полиэдрах обнаружены тимонуклеиновая кислота и дрожжевая нуклеиновая кислота. Как и у предыдущего класса, липоиды отсутствуют. Пока известны только представители этого класса, паразитирующие у насекомых.

3-й класс — Gamaleyae. Типичные представители этого класса — шарообразной формы, многие снабжены отростком с дисковидным расширением на конце, который служит, повидимому, органом прикрепления. У одного представителя доказано наличие оболочки. Содержат большое количество тимонуклеиновой кислоты. Дрожжевой нуклеиновой кислоты и липоидов мало или наличие их спорно. Способны усваивать аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания. Пока известны только в качестве паразитов бактерий и актиномицетов. По крайней мере отчасти являются эктопаразитами. Палочкообразные и неизвестной формы более мелкие паразиты бактерий к этому классу отнесены только предварительно. Мы не относим к нему возбудителя мало изученного заболевания у Cristispira balbianii, образующего в ее клетках кристаллические включения.

4-й класс Arthropodophilae. Представители класса, паразитирующие у животных, имеют шарообразную или овальную форму, редко превышают 50 mμ в поперечнике. Относимые сюда паразиты растений мало изучены морфологически. Некоторые из их числа, по последним данным, достигают в поперечнике 100 mμ. О двух из относимых сюда вирусов мы знаем, что они содержат дрожжевую нуклеиновую кислоту и липоиды. Распространяются представители данного класса членистоногими. Нередко доказано их размножение в переносчике. В резервации вирусов этой группы большую роль играют дикие животные, а также дикорастущие растения — обитатели лесов и степей. Многие из относящихся сюда вирусов чрезвычайно мало специализированы, и патогенные для животных вирусы нередко поражают и млекопитающих, и птиц. Вирусы растений, относящиеся к этому классу, поражают представителей разнообразных семейств и могут размножаться и в растении, и в насекомом-переносчике. Встречаются также высокоспециализированные паразиты, подобные возбудителям денге и паппатачи, поражающим только человека.

5-й класс — Chlamydozoa. Представители этого класса — прямоугольной или округлой формы. Их поперечник редко меньше 100 mμ отдельные представители достигают 700 mμ в поперечнике. Во всех случаях, когда это детально исследовалось, обнаружены тимонуклеиновая кислота и липоиды. Вирус гриппа, повидимому, содержит обе нуклеиновые кислоты. Характерна высокая специализация. Отдельные вирусы поражают определенные виды, а иногда даже только разновидности. Переход к другому хозяину связан с процессом адаптации и глубоким изменением специализации вируса. Распространение в природе по большей части не связано с переносчиком. Резервация в диких животных встречается редко, а когда это имеет место, то перенос вируса совершается непосредственно носителем (передача бешенства волками и кровососами). Широко распространены вирусы, поражающие кожу и слизистые, некоторые нейротропны. Пантропных вирусов почти не встречается.

Мы пытались провести подразделение на классы на основе совокупности признаков вирусов, знанием которых мы располагаем в настоящее время. Само собой разумеется, что каждый признак, взятый в отдельности, может встречаться в другой комбинации и у представителей другого класса.

Мы можем сделать сведения перечисленных систематических категорий несколько более полными, если дадим понятие о дальнейшем их подразделении на порядки, а также о составе отдельных порядков.

Выше уже было отмечено, что система, предложенная Холмсом, основана на симптомах, а не на свойствах вирусов. Советскими учеными она была подвергнута справедливой критике [3, 17, 19]. Хотя эту систему уже принял целый ряд зарубежных исследователей, но в последнее время и за рубежом она встретила резко отрицательное отношение. На Микробиологическом конгрессе в Рио-де-Жанейро в августе 1950 г., на котором присутствовали вирусологи многих стран, эта система была признана несостоятельной [26].

Обратимся к краткой характеристике отдельных порядков.

1-й класс Eucrystallinae. Подразделяется на порядки Beijerinckiales и Insectophiles. Порядок Beijerinckiales характеризуется тем, что к нему относятся вирусы нитевидной или шарообразной формы, по большей части известные в кристаллическом виде и по большей части весьма устойчивые к внешним воздействиям, которые передаются соком легче, чем сосущими насекомыми, а иногда сосущими насекомыми и вовсе не передаются. В этом порядке мы различаем семейство Virothricaceae, куда относятся нитевидные формы, и семейство Crystallococcaceae, куда относятся шарообразные формы. Типичным родом первого из этих семейств является род Virothrix, куда относятся наиболее устойчивые к высоким температурам вирусы и по большей части серологически родственные. Типичным для этого рода видом является Virothrix Ivanovskii — классический вирус мозаичной болезни табака. К этому же семейству относится род Solanophilus, характеризующийся меньшей устойчивостью к высоким температурам, полной серологической обособленностью от предыдущего рода, распространением только при помощи сока и специализацией в рамках семейства пасленовых. Типичный вид этого рода Solanophilus tuberosi-X-вирус картофеля.

Семейство Crystallococcaceae отличается от предыдущего тем, что его представители — шарообразной формы. Типичный род этого семейства — Crystallococcus. Представители этого рода — паразиты растений,— весьма устойчивые к высоким температурам, способные образовать кристаллы. Типичный вид этого рода C. lycopersici — возбудитель кустистости у помидора. К этому же роду мы относим C. tabaci — вирус некроза у табака, C. cruciferi — вирус желтой мозаики турнепса, C. medicaginis — вирус мозаичной болезни люцерны и др.

К этому же семейству мы относим некоторых паразитов животных и человека, в том числе род Löffleria с единственным видом L. equi — вирус ящура и род Myelovirus с типичным видом M. hominis — вирус полиомиелита человека, а также другие вирусы: M. Theilori — полиомиелита мышей, M. cardiophilus — энцефаломиокардита, M. Mengo — энцефаломиелита Менго, C. coxsackie полиомиелита Coxsackie и др.

Другой порядок рассматриваемого класса — Insectophiles. Вирусы, сюда относимые по электронномикроскопическим данным, весьма сходны с представителями предыдущего порядка, они изучены меньше, чем представители предыдущего порядка, и мы не имеем данных об их химическом составе. По большей части они менее устойчивы к воздействиям внешней среды и плохо сохраняются вне организма. Для вирусов, сюда относимых, характерно, что они передаются соком с большим трудом, чем сосущими насекомыми (по большей части тлями). Существуют разные степени адаптации к переносу вирусов этой группы насекомыми, однако во всех случаях передача остается «механической» — вирус не проделывает в насекомом инкубационного периода. Это обстоятельство, а также то, что вирусы этого порядка не обладают тропизмом в отношении флоэмы, резко отличает представителей этого порядка от порядка Leptomotropiales, принадлежащего к классу Arthropodophilae. Типичное семейство данного порядка — Aphidophilaceae. В отличие от семейства Virococcaceae представители его имеют форму палочек и нитей, тогда как к семейству Virococcaceae отнесены шарообразные формы. Типичный род первого из этих семейств — Aphidophilus, для которого типичным видом является Aph. cucumeris — вирус огуречной мозаики № 1. Для второго семейства типичный представитель Virococcus cucurbitae — вирус мозаичной болезни тыквы. Род Aphidophilus весьма обширен. Сюда мы относим Aph. phaseoli — вирусы мозаичной болезни фасоли № 1 и № 2, Aph. tuberosi — Y — вирус картофеля, Aph. pisi — вирус мозаичной болезни гороха, Aph. cruciferae — вирус Кольцевой пятнистости капусты, Aph. tulipae — вирус полосатости тюльпана, Aph. betae — вирус мозаичной болезни свеклы.

2-й класс Pseudocrystallinae. К этому классу относится порядок Borrelinales, который был правильно охарактеризован Штейнгаузом [45], к работам которого мы и отсылаем.

3-й класс — Gamaleyae. Представители этого класса изучены недостаточно, для их характеристики можно пользоваться только данными электронной микроскопии

и специализацией отдельных видов, которая заходит в данном классе очень далеко. Фаги, поражающие одновременно большое количество разных видов бактерий, встречаются редко. Использовать для классификации специализацию фагов, однако очень затруднительно, так как один и тот же вид бактерии поражается многими фагами. На данном уровне нашего знания мы затрудняемся предложить что-нибудь другое, кроме подразделения единственного порядка этого класса Gamaleyales на три семейства. К семейству Bacteriophagaceae мы относим формы с отростком, типичным родом этого семейства можно считать Bacteriophagus с типичным видом B. Escherichiae — фаг кишечной палочки T_2. К семейству Phagococcaceae относятся виды фага без отростка. Типичным родом здесь является Phagococcus с типичным видом Ph. Escherichiae — фаг кишечной палочки T_7. Наконец, к семейству Lysogenaceae мы относим предварительно все виды фагов с частицами столь мелкими, что пока их не удалось обнаружить в электронный микроскоп, например, род Lysogenus с типичным видом L. typhi, который описан Руска [43], как фаг № 174.

4-й класс — Arthropodophilae. В этом классе мы различаем следующие порядки: порядок Pantropiales, к которому относятся пантропные вирусы, переносимые клещами или комарами. Химия и морфология этих вирусов не изучена. Типичное и единственное семейство этого порядка Pantropiaceae с типичным родом Pantropus, для которого типичным видом является P. Tschumakovi, вирус крымской геморрагической лихорадки. К тому же роду относится P. dermacentori — омской геморрагической лихорадки, P. americanus — колорадской клещевой лихорадки, P. Singo — лихорадки Синго. Мы считаем необходимым в особый род Aedephilus выделить группу высокоспециализированных вирусов, к которой относятся вид Aëd. Dengue — возбудитель денге, вид Aëd. papp ataci — возбудитель паппатачи, Aëd. flavus вирус желтой лихорадки.

Второй порядок того же класса Neurotropiales отличается от предыдущего нейротропностью. Единственное семейство порядка Neurotropiaceae, типичный род его Neurotropus с типичным видом N. americanus — вирус энцефаломиелита лошадей. Мы имеем данные, характеризующие этот род морфологически и химически: размер частицы около 50 mμ, наличие липоидов и дрожжевой нуклеиновой кислоты. Представители рода Encephalotropus ни химически, ни морфологически не изучены. Их частица мельче, чем у предыдущего рода. Типичный вид этого рода E. Silberi — вирус весенне-летнего клещевого энцефалита. К этому же роду относится E. ovis — возбудитель Louping ill., E. japonicus — вирус японского энцефалита и др. Вирус кератоконъюнктивита в настоящее время должен быть отнесен к тому же роду, как вид E. conjunctivae. Доказано большое серологическое родство и сходство клинической картины заболевания у животных, вызываемого этим вирусом, с E. St. Lui — вирусом энцефалита Сант-Луи.

К рассматриваемому здесь классу мы относим также порядок Leptomotropiales. Представители этого порядка — паразиты растений. Они обитают по большей части во флоэме растительного организма и лишь только иногда выходят за ее пределы, как Graminevorus avenae (возбудитель закукливания). Связь с насекомым-переносчиком во всех случаях органическая, и большинство вирусов, относимых сюда, не передается соком, однако есть и исключения. При наличии инкубационного периода в насекомом некоторые сюда относимые вирусы передаются соком, что зависит от утраты их связи с флоэмой, как, например, Agalliaphilus tuberosi — вирус желтой карликовости картофеля или Thripsophilus lycopersici — вирус бронзовости помидора. Основную группу относимых сюда вирусов составляют те, которые распространяются различными цикадами, однако часть видов вирусов этого класса в своем распространении связана с другими сосущими насекомыми, а один вид рапространяется клещами. Данные по морфологии относимых сюда вирусов почти отсутствуют. Данных о химическом составе нет, поэтому единственно возможное основание для подразделения на семейства этих вирусов — это связь их с той или другой группой переносчиков. Типичным семейством следует считать Leptomotropiaceae с типичным родом Leptomotropus, к которому относятся виды L. Callistephi — вирус желтухи астр, L. apii — желтухи сельдерея, L. Koraževscianus — столбура, L. taraxaci — желтухи кок-сагыза, L. solanacearum — ведьминых метел картофеля, L. lycopersici — «big bud» помидора, L. Vaccinii — позеленения цветка Vaccinium и др. Все относимые сюда вирусы распространяются цикадами. Для большей части их доказано, что они могут вызывать очень сходные столбуроподобные изменения у ряда видов, например, у Vinca rosea. К тому же семейству мы относим род Graminevorus, поражающий злаков, с видами G. avenae — вирус закукливания и G. tritici — вирус воронежской мозаики пшеницы. Сюда же, вероятно, относятся другие вирусы, поражающие злаки, передаваемые цикадами. К семейству Thripsophilaceae относятся виды Kreizbergia pistaciae, вирус розеточной болезни фисташки и Thripsophilus lycopersici — вирус бронзовости помидора. Представители этого семейства распространяются трипсами. Представители семейства Quanjeriaceae распространяются тлями. Типичный род этого семейства Quanjeria. Quan. tuberosi — вирус скручивания листьев картофеля. Сюда же мы относим Quan. Verdelevskiana — вирус скручивания листьев хлопчатника. Представители семейства Piesmaphilaceae распространяются клопами из рода Piesma. Типичный род этого семейства Piesmaphilus с видами P. europeus — вирус курчавости листьев свеклы и P. americanus — вирус савойя свеклы. Семейство Acarinaphilaceae имеет единственный род Acarinaphilus и единственный вид A. antholysatus — махровости смородины. Передача вируса совершается Eriophyes ribis. Одной из насущней-

ших задач является дальнейшее морфологическое и химическое изучение представителей рассматриваемого здесь порядка, исключительный интерес представляет то обстоятельство, что некоторые из представителей рассматриваемого порядка размножаются как в насекомом-переносчике, так и в растении. Мароморош ([38], 1952), доказав размножение вируса желтухи астр в цикаде, справедливо замечает: «вирус желтухи астр не может в дальнейшем рассматриваться только как вирус растения» (стр. 63). Далее автор обращает внимание на последствия, вытекающие из этого положения для классификации вирусов, на что мы указывали уже значительно раньше ([17], 1947). Как мы видели выше, некоторые представители порядка Leptomotropiales передаются только насекомыми и трансплантацией, другие же также передаются уколом иглы. Способ передачи в данном случае связан с тропизмом вируса. Те из вирусов, которые обитают во флоэме, переносятся исключительно насекомыми. Выход из флоэмы в другие ткани в конце концов приводит к тому, что вирус приобретает способность передаваться инокуляцией сока. Все вирусы, относимые к порядку Leptomotropiales, имеют инкубационный период в переносчике. В классе Eucrystallinae также встречаются вирусы, распространяемые насекомыми, но там передача насекомыми более механическая. На основании данных, изложенных ниже, можно предположить, что органическая связь вируса с насекомым и непередача его инокуляцией сока являются более древними. Постепенно вирусы эмансипируются от связи с насекомым, адаптируясь к другим, кроме флоэмы, тканям растения и приобретая способность передаваться от больного растения к здоровому без помощи переносчика. В природе встречаются различные стадии этой адаптации.

Особые трудности для систематики вирусов представляют те вирусы, для которых неизвестны никакие другие способы распространения в природе кроме трансплантации. Свойств этих вирусов в настоящее время мы вовсе не знаем, поэтому соответствующую группу вирусов пока приходится объединять в совершенно искусственный порядок Dubiales. Представители этого порядка, повидимому, возникли путем адаптации к таким хозяйственным манипуляциям, как прививка, окулировка и т. п. Вирусы этой группы особенно широко распространены именно среди древесных пород, к которым чаще применяются упомянутые приемы. Интересную аналогию этим вирусам составляет вирус сывороточного гепатита, который распространяется только при помощи шприца и, следовательно, является вирусом, приспособившимся к врачебным манипуляциям. Представители порядка Dubiales, вероятно, возникли от вирусов, раньше распространявшихся в природе насекомыми, поэтому мы относим данный порядок к классу Arthropodophilae. Утрата насекомого-переносчика иногда была связана с миграцией вируса в географические районы, где данное насекомое-переносчик вовсе отсутствует. Вирус инфекционного хлороза у абутилона (Photophilus elegans) был завезен в Англию из Южной Америки вместе с одним экземпляром абутилона и в дальнейшем размножался только при прививках больных растений к здоровым.

5-й класс Chlamydozoa — заключает в себе следующие порядки:

Chlamydozoales. Этот порядок характеризуется крупными размерами (до 700 mμ в поперечнике), значительным содержанием воды, дифференцировкой частичек на периферическую и центральную части, чувствительностью к сульфаниламидам и большим серологическим родством. К этому порядку принадлежит единственное семейство Chlamydozoaceae, которое объединяет два семейства Мошковского Ehrlichiaceae и Chlamydozoaceae.

Borreliotales. Типичным семейством этого порядка является Borreliotaceae. К этому порядку относятся более мелкие, не свыше 300 mμ в поперечнике, бедные водой, устойчивые к сульфаниламидам вирусы, имеющие прямоугольную или округлую форму. Перечень семейств этого порядка был дан ранее [19].

Pneumotropiales. Типичным для этого порядка можно считать семейство Pneumotropiaceae. Типичным родом для этого семейства является Pneumotropus с видами P. grippae — вирус гриппа человека; P. porci — вирус гриппа свиней и др. Поперечник частиц в этом порядке около 100 mμ, представители его пневмотропны.

На этом мы заканчиваем характеристику порядков и некоторых семейств различных классов вирусов. Недостаток места не позволяет нам полностью привести систему вирусов. На вирусах, патогенных для растений, мы остановились подробнее, чем на вирусах, патогенных для человека и животных, так как обзор последних нами был сделан ранее [19].

Как известно, можно различать следующие этапы в построении систематики: искусственная, естественная и, наконец, филогенетическая систематика. Искусственная систематика объединяет организмы на основе каких-либо удобных признаков, не считаясь с подлинным сходством между ними. Именно так поступал Линней, когда классифицировал высшие растения по числу тычинок. Однако Линней уже иногда поднимался на уровень принципов естественной систематики, кладя в ее основу сходство организмов. Сходство часто возникает у организмов разного происхождения при сходных условиях жизни, поэтому естествен-

ная система не гарантирует филогенетической системы, которая должна отразить родственные связи, как они сложились в процессе эволюции, и к которой стремится наука как к высшей форме систематики. Каждый элементарно знакомый с зоологией и ботаникой знает, что, несмотря на огромные усилия целого ряда поколений ученых, место в филогенетической системе целого ряда групп осталось еще недостаточно расшифрованным. Таким образом, система несет в себе те слабые места и пробелы, которые на данном этапе развития науки поневоле остаются на уровне естественной или даже искусственной системы. Несколько лет назад нами было сформулировано требование применения к системе вирусов всех доступных методов филогенетической систематики (1947, 1950). Жданов и Коренблит упрекают автора этой статьи в том, что «нереализованной остается также декларация автора о необходимости филогенетического подхода к систематике вирусов» ([3], стр. 40, 1950). Замечание это весьма справедливое, так как филогенетическая система вирусов в настоящее время едва начинает строиться. Она требует такого фактического материала, которым мы пока еще не располагаем. Можно, однако, с грустью констатировать, что названные авторы нашим попыткам систематики вирусов противопоставляют свои рассуждения о первых этапах эволюции вирусов, не подкрепляемые никакими аргументами, предполагая, повидимому, что к подобным рассуждениям и сводится работа филогенетика.

Мы хотим подчеркнуть, что сделанные нами замечания ничего общего не имеют с агностицизмом. Напротив, оптимистическая уверенность в том, что существуют реальные пути изучения филогении вирусов, и в том, что недалеко то время, когда мы сможем в этой области оперировать фактами еще в большей степени, чем теперь, а не одними мнениями, заставляет нас с большой осторожностью высказывать различного рода предположения.

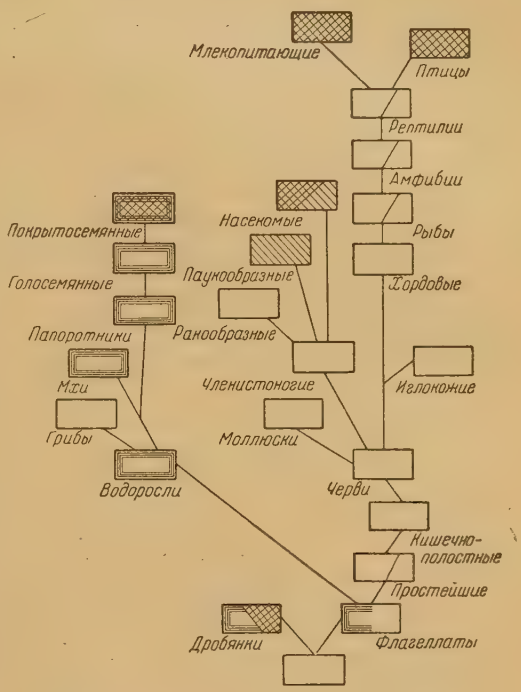
Обсуждая вопрос о филогении вирусов, необходимо отдать себе отчет о тех методах, которыми мы располагаем в этом отношении.

Прежде всего не совершенно закрыт путь палеонтологических исследований. Полиэдры, характерные для желтух насекомых, легко противостоят гниению, и их нетрудно будет узнать при микроскопировании шлифов окаменелостей, не говоря уже о мягких частях насекомых, сохранившихся в янтаре. Дальнейшее усовершенствование электронно-микроскопической техники, может быть, позволит изучать при помощи этого прибора не только ископаемых диатомей [37], но и элементарные тельца.

Большое значение для филогенетических построений в мире вирусов должен иметь метод, подробно разработанный Рубцовым [9] для таких высокоорганизованных паразитов, как вши. Этот исследователь установил, что эволюция паразитов следует за эволюцией их хозяев, обычно несколько отставая. Вирусолог во всяком случае не должен забывать, что вирус, паразитирующий только у человека, не мог возникнуть раньше человека, как бы ни была велика древность предков этого вируса. Наличие сходных вирусов у какой-либо обширной группы родственных организмов в целом ряде случаев может служить указанием на происхождение этих вирусов от общего родоначальника, возникшего несколько позднее родоначальника данной группы хозяев. Конечно, при этом приходится считаться со всеми случаями вторичной адаптации (например, переход вируса от человека к домашним животным или наоборот). Наконец, при филогении вирусов может дать результаты осторожное, достаточно критическое применение данных географического распространения вирусных заболеваний. Конечно, и здесь факторы вторичного порядка также будут очень затруднять работу исследователя. Обсудим здесь хотя бы в самых общих чертах вопрос о древности вирусов и отдельных их групп, исходя из тех скудных сведений, которыми мы в

настоящее время располагаем. Будем рассматривать дальнейшее не как законченную систему мнений, а как набросок, наглядно показывающий пробелы в нашем знании, подлежащие скорейшей ликвидации.

На рисунке схематически изображено родословное дерево животного и растительного мира, причем условными обозначениями показано, как часто встречаются вирусные заболевания в отдельных крупных группах животного и растительного мира. Из рисунка мы видим, что наиболее примитивные организмы, которые поражаются вирусами,— это дробянки. Среди бактерий и актиномицетов широко распространены вирусные заболевания, известные под названием бактериофагии. Одна кишечная палочка поражается, например, не менее, чем семью разными вирусами. Поднимаясь выше по родословному дереву жизни, мы обнаружим, что в мире растений вирусы почти не встречаются до покрытосемянных. У папоротникообразных зарегистрировано одно вирусное заболевание, в остальных группах ни одного. Несколько более непрерывный ряд образуют вирусные заболевания животных. У инфузорий известно одно вирусное заболевание, у рыб бесспорно, есть несколько вирусных заболеваний, в небольшом числе они зарегистрированы и у других животных с непостоянной температурой тела. Большая часть известных вирусных заболеваний, однако, сосредоточена у членистоногих, птиц и млекопитающих. Нам могут сказать, что подобное распределение вирусных заболеваний не отвечает действительности, что оно характеризует только наше незнание. Мы раньше познакомились с вирусными заболеваниями у тех представителей животного и растительного мира, которые нам нужны. В остальных же группах нам еще предстоит открыть имеющиеся там вирусы, пока остающиеся для нас неизвестными. Соображение это, конечно, отчасти справедливо. Бесспорно, что нам еще предстоят открытия вирусов в тех группах, в которых они пока не отмечены на приведенной у нас схеме, однако не следует преувеличивать значение ссылки на недостаточное незнание. Возьмем такую хорошо изученную группу, как грибы, отдельные представители которой давно введены в культуру. Разве мы знаем вирусные заболевания дрожжей или мукора или пенициллиума? Однако с явлениями фаголизиса актиномицетов мы познакомились раньше, чем эти организмы приобрели свое нынешнее значение. Нельзя не отметить, что уже давно человек культивирует целые лесные массивы голосемянных растений и хорошо знает разнообразных их паразитов, но не знает у них ни одного вирусного заболевания. Несомненно, что вышеприведенная схема не благоприятствует



Родословное дерево животного и растительного мира. Распространение вирусов в отдельных группах обозначено косыми полосками. Количество этих полосок дает представление о количестве вирусов, известных в качестве паразитов данной группы

предположению о том, что вирусы у самых истоков их эволюции разделились на вирусы высших растений, животных и бактерий. Если бы мы имели право отнестись к этой схеме с полным доверием, мы могли бы предположить, что в классе Gamaleyae находятся древнейшие представители вирусов. В пользу древности этих вирусов также можно было бы привлечь и эктопаразитизм, по крайней мере некоторых из них. Расцвет эволюции вирусов, судя по нашей схеме, тесно связан с появлением сосущих насекомых и других членистоногих, паразитирующих у высших растений, птиц и человека. Можно предположить, что эволюция вирусов длительное время была тесно связана с бактериями, как хозяевами первобытных вирусов. Через посредство симбиотических и паразитических бактерий вирусы впервые вошли в организмы растений, птиц и млекопитающих. Можно предположить, что адаптация к новым хозяевам особенно легко совершалась там, где бактерия жила в симбиозе, так как эффект паразитической бактерии слишком деструктивен для того, чтобы успевала осуществляться адаптация бактериального вируса к новому хозяину. Нельзя не обратить внимания на то, что именно сосущие соки растений и кровь животных членистоногих особенно богаты симбиотическими микробами. Цикады иногда имеют до пяти разных симбионтов, поголовно заселяющих представителей данного вида. Наши предположения, конечно, нуждаются в проверке. Изучение симбиотических внутриклеточных микробов у насекомых и клещей находится в зачаточном состоянии и следует попытаться найти какие-либо связи между этими симбионтами и вирусами. Если бы развиваемые здесь догадки оказались правильными, то новую эволюционную основу получили бы явления вирусоносительства у микробов (аллобиофория) (Зильбер [4а]), ассоциации некоторых вирусов с микробами и т. п. Следует отметить, что переносчики вирусов растений по большей части принадлежат к числу насекомых с неполным превращением. Палеонтология отмечает, что именно эта группа насекомых является наиболее древней. Ее представители известны уже в палеозое. Адаптация вирусов к насекомым могла идти уже в это время, однако интенсивная дивергенция вируса должна была совпасть с мезозоем, когда появились покрытосемянные, птицы, и древними периодами кайнозоя, когда шло приспособление сосущих членистоногих к млекопитающим.

Нельзя, конечно, игнорировать и другие возможные пути эволюции вирусов. Если адаптация их к протозоа и затем к низшим позвоночным рано имела место, то придется различать две ветви в эволюции вирусов: одну, связанную с эволюцией членистоногих, другую независимую от нее.

Сказанное здесь является, конечно, весьма гипотетическим, но, как нам кажется, обрисованные здесь возможности эволюции вирусов заслуживают и изучения и обсуждения.

Обращаясь к вопросу о древности отдельных групп вирусов, мы можем предположить, что представители порядка Leptomotropus являются одними из древнейших, уже в силу некоторых особенностей географического распределения относящихся сюда вирусов. Может быть, особенно наглядно это видно в отношении вирусов, патогенных для растений. Возьмем такую группу, как род Leptomotropus. Два представителя этого рода были одновременно описаны в Австралии и в Крыму, причем первоначально предполагалась тождественность этих вирусов [21]. В дальнейшем оказалось, что очень родственные этим вирусам возбудители болезней растений широко распространены на земном шаре. По характерным фотографиям мы обратили внимание на наличие этого типа заболевания в Калифорнии [12], где они и были описаны позднее [29].

За последние годы проделана большая работа по сопоставлению разных заболеваний, вызываемых представителями рода Leptomotropus. Вирусы, сюда относимые, не передаются соком, вследствие чего очень часто затруднительно сопоставление их на одном хозяине. Задача силь-

но облегчилась, так как оказалось, что паразитическое растение повилика может передавать вирус с одного растения на другое. Применяя этот метод, Кинкель [33] произвел сравнение значительного количества вирусов на Vinca rosea, помидоре и других растениях. Все они вызывают чрезвычайно сходные симптомы и столбурный тип позеленения цветка [13], но отличаются между собой тем, что их переносчики принадлежат к разным видам цикад, что набор их хозяев несколько различен, а также различиями хотя бы и незначительными в симптомах заболевания. На территории нашего Союза имеют различный ареал распространения несколько вирусов, принадлежащих к роду Leptomotropus, на что мы обратили внимание уже в 1946 г. [16] и что в настоящее время признано даже авторами ([24], 1945), раньше игнорировавшими это различие ([25], 1950). Большой интерес представляет установление особого переносчика для столбуроподобного заболевания помидора, встречающегося в Грузии [22].

Таким образом, мы видим, что ареал распространения представителей рода Leptomotropus чрезвычайно широк. Вероятность вторичного занесения этих представителей крайне незначительна, если учесть, что рассматриваемые здесь вирусы не передаются соком, крайне специализированы в отношении насекомых-переносчиков и часто широко распространены в растениях, обитающих в данной местности в диком состоянии. Весьма вероятно, таким образом, что родоначальник данной группы вирусов возник еще тогда, когда Австралия была соединена с другими материками, т. е. до Юры.

Существенно отметить здесь то обстоятельство, что представители очень монолитного рода Leptomotropus, к тому же принадлежащего к одной и той же группе вирусов, вызывающих столбуроподобные заболевания, распространяются видами цикад, принадлежащими не только к разным семействам, но даже к разным надсемействам. Большинство переносчиков этих вирусов принадлежит к надсемейству Cicadoidea, однако переносчик столбуроподобного заболевания, встречающегося на Кавказе, принадлежит к Fulgoroidea. Таким образом, вирусы одного рода связаны в своем паразитизме с цикадами, принадлежащими к разным семействам и надсемействам. Это обстоятельство можно было бы использовать как иллюстрацию приложимости упомянутого выше правила Рубцова к вирусам.

Представители рода Encephalotropus, вызывающие у человека и животных энцефалит, кроме сходства в отношении экологии и других признаков, нередко обнаруживают значительное серологическое сходство. Они также имеют широчайший ареал распространения и часто циркулируют в диких животных — обитателях тайги и т. п. Суждение о древности этой группы, однако, несколько затрудняется тем, что ее представители паразитируют в птицах, пределы для миграции которых определить затруднительно и которые к тому же могут переносить на себе клещей, являющихся резервуарами части этих вирусов. Поэтому наши предположения о древности и этой группы более произвольно. В классе Arthropodophilae наименее древнюю группу должны представлять вирусы, вызывающие желтую лихорадку, денге и паппатачи. История желтой лихорадки хорошо изложена у Бернета. Весьма вероятно возникновение этих вирусов в Старом Свете уже после того, как он был отделен водными просторами от Нового Света.

В классе Chlamydozoa с точки зрения географического распространения интересны представители рода Chlamydozoon.

Пситтакоз поражает диких попугаев Австралии и Америки. Вдали от этих ареалов, по сообщению Бернета, разразилась эпидемия пситтакоза на Фарерских островах, источником которой были больные пситтакозом дикие птицы — глупыши (Fulmarus glacialis L.) Эти птицы распространены в северной части Атлантического и Тихого океанов [2].

Подобное распространение заболевания не свидетельствует о его древности, так как перенос птицами на далекое расстояние остается весьма вероятным. Нет основания считать очень древними вирусы группы оспы, повидимому они возникли в сравнительно позднее время и адаптация их к различным домашним животным, может быть, носит вторичный характер. Если рассматриваемый здесь род Paschenia и не является очень древним, то сама группа вирусов с прямоугольными элементарными тельцами имеет некоторые основания претендовать на большую древность, так как один из немногих известных нам вирусов, поражающих низших позвоночных,— оспа карпов — имеет также прямоугольные элементарные тельца.

Другие представители класса Eucrystallinae, вероятно, относительно нового происхождения. Вирусы, вызывающие полиомиелит, весьма специализированы и встречаются у человека и у немногих млекопитающих (главным образом у мышей), повидимому, они возникли в Старом Свете. Изображения поражений полиомиелитом у человека известны уже на древнеегипетских памятниках. Недавно обсуждался вопрос о происхождении классического вируса табачной мозаики. Холмс, сопоставляя распространение в Америке чувствительных к этому вирусу и устойчивых видов табака, пришел к выводу о существовании одного центра, в котором названный вирус должен был возникнуть [32]. Валло [48] опирается на то обстоятельство, что в США широко распространено заболевание подорожника вирусом табачной мозаики, и предполагает, что вирус с этого сорняка перешел на культивируемый табак. Так или иначе, есть все основания предполагать, что вирус табачной мозаики попал в Европу с табаком, так как он и в настоящее время здесь лишь редко встречается у подорожника и явно перешел на этот сорняк вторичным образом, так как у подорожника его можно встретить там, где длительное время культивировался пораженный мозаикой табак. Таким образом, вирус мозаичной болезни табака возник в Америке и, вероятно, уже после отделения этой части света от других континентов. Единственный представитель рассматриваемого здесь класса, вызывающий кристаллические отложения в клетках бактерий (Crystallobiotus cristispirae), изучен слишком мало, чтобы можно было сейчас обсуждать вопрос о его происхождении.

Все основания считать класс, к которому относятся фаги, очень древним были изложены выше. Несмотря на очень большую древность, паразитирующие у бактерий представители этого класса, конечно, могли возникнуть только после бактерий. Огромный интерес, имеющий прямое отношение к вопросу о происхождении вирусов, представляет вопрос о свободно живших (а может быть, и сейчас где-либо свободно обитающих) предках и близких родичах этих предков — бактериофагов. Мы вынуждены терпеливо ожидать дальнейших открытий в этой столь важной для науки области.

Имеют ли риккетсии какое-либо родство с вирусами? Родство риккетсий с бактериями вряд ли может вызвать сомнение. Нельзя не отметить, что эволюция риккетсии, так же как и эволюция многих вирусов, тесно связана с членистоногими. Выше отмечалось, что риккетсии не имеют большого сходства с вирусами. Из числа риккетсий возбудитель лихорадки «Q» — Rickettsia Burneti по своим размерам, казалось бы, ближе стоит к вирусам, чем многие риккетсии, однако электронномикроскопические наблюдения подчеркивают близость этого возбудителя к другим риккетсиям и сходство его с бактериями, а не вирусами. Таким образом, родство риккетсий и вирусов пока не имеет фактического основания, а вместе с тем отпадает какой-либо намек на фактические данные в пользу происхождения вирусов от бактерий. Автора этой статьи нередко упрекали в том, что он допускает происхождение вирусов от бактерий. Следует сказать, что автор всегда допускал и продолжает

допускать различные возможности в отношении происхождения вирусов, так как это вопросы, подлежащие еще дальнейшему исследованию. По соображениям, связанным с отсутствием фактического материала, в настоящее время происхождение вирусов от бактерий не представляется очень вероятным.

В связи с затронутыми здесь вопросами нельзя не коснуться и проблемы о первичной и вторичной простоте вирусов. Автор считает самоочевидным, что паразитизм связан с известным упрощением организации. Едва ли кто-нибудь из гельминтологов стал бы, например, утверждать, что отсутствие глаз и кишечника у паразитических ленточных глистов — более древний признак, чем наличие этих органов у свободно живущих плоских червей. Точно так же, как известно, паразитические бактерии не имеют многих энзиматических систем, свойственных свободно живущим. Это, конечно, не исключает, но даже предполагает различные прогрессивные приспособления к паразитизму. У вирусов к числу таковых относятся довольно распространенные среди вирусов, паразитирующих у человека, энзиматические системы, обладающие сродством к мукопротеидам эритроцитов. Напомним, что вопрос, которого мы здесь касаемся в общем виде, разработан Северцовым в его учении об ароморфозах и идеоадаптациях. По поводу регрессивных изменений у паразитов этот ученый пишет: «Аналогичные регрессивные изменения мы наблюдаем у паразитов, особенно у тех, которые живут внутри тела хозяина. Здесь также условия являются гораздо менее сложными, чем у животных, ведущих свободный образ жизни: часто животные обитают в полной темноте и при постоянной температуре; кроме того, у них отпала необходимость в активной деятельности для добывания пищи (отыскание добычи, схватывание ее и пр.), в передвижении и т. д. В связи с таким очень значительным упрощением условий, мы у многих паразитов, принадлежащих к разнообразным группам животного царства, находим очень большие регрессивные изменения» ([23] стр. 62). Само собой разумеется, что у внутриклеточных паразитов условия, о которых пишет Северцов, еще более резко выражены, чем у паразитов, живущих в различных полостях тела.

Было бы чрезвычайно важно найти критерии, которые позволили бы нам, наряду с особенностями, характеризующими первичную простоту вирусов, и признаками, вновь приобретенными ими, как прогрессивное приспособление к паразитизму, различать элементы рудиментарные и элементы вторичной простоты. В связи со всем вышеизложенным особый интерес представляют свободно живущие доклеточные формы жизни. Эти формы обнаружены среди цистоцетов. В то время как большая часть цистоцетов — паразиты, некоторые из них ведут сапрофитный образ жизни в конъюнктиве глаза, в половых путях млекопитающих и т. п. Кроме того, в некоторых случаях цистоцеты удавалось выделять из богатых органическими веществами сточных вод. Имеются сравнительно отрывочные данные по морфологии цистоцетов, очень мало данных об их физиологии и вовсе отсутствуют сведения об их химическом составе. А между тем эта группа представляет совершенно исключительный интерес, так как необходимо установить ее отношение к простейшим формам жизни, ее возможное отношение к вирусам, более высоко организованным простейшим организмам и т. д.

В течение долгого времени казалось нет надежды проникнуть в этапы эволюции жизни, которые предшествовали появлению клеточных организмов. Благодаря открытиям Ивановского науке стал известен целый мир форм более простых, чем клетка. Науке открылась возможность фактически изучать и сравнивать строение, жизненные отправления и взаимоотношения этого мира со всей остальной природой.

Если мы вспомним, какому напряженному труду многих тысяч ученых ряда поколений в разнообразных областях сравнительно биологи-

ческих исследований мы обязаны тем, что незыблемо стоит картина эволюции животного и растительного мира и что эволюционная теория вошла в нашу методологию как одна из основ научной методологии, то мы поймем, что и область изучения эволюции доклеточных форм жизни и их систематики потребует напряженнейших усилий и многочисленных исследований. Таким образом, задача построения системы доклеточных организмов — это задача не только логическая, но и задача целеустремленных, строго планированных исследований, проникающих в те области познания доклеточных форм жизни, которые пока остаются темными.

В этой статье мы делали различные сопоставления, высказывали разные предположения. Развитие изучения доклеточных форм жизни идет так быстро, что многое, кажущееся сегодня верным или вероятным, может завтра с полной очевидностью оказаться неправильным. Однако среди всех этих неопределенностей и неясностей, возникающих вследствие новизны предмета, нам хотелось бы выдвинуть несколько тезисов, положение которых нам представляется более прочным.

1. Ко всем без исключения вирусам применимо понятие вида; вирусы должны рассматриваться как продукт исторического развития и вследствие этого они должны быть предметом филогенетической систематики.

2. Система вирусов должна строиться на основе их собственных свойств и взаимоотношений, в которые они вступают в живой природе.

3. Наши пробелы в области знания свойств большей части вирусов так велики, что отнесение их к той или другой систематической категории нередко носит предварительный характер. Сама система лишь в немногих пунктах поднимается на уровень филогенетической и естественной, оставаясь в значительной мере искусственной.

4. Несмотря на перечисленные трудности, уже сейчас совершенно необходимо разрабатывать проблемы систематики вирусов, так как это будет способствовать планомерному их изучению и приблизит нас к познанию всех основных этапов эволюции вирусов.

5. Система Холмса, как построенная на симптомах болезней, а не на свойствах вирусов, является антинаучной и совершенно негодной к употреблению.

6. В настоящее время нет серьезных оснований для разделения вирусов на несколько самостоятельных типов. Разнообразие, обширность и своеобразие вирусов заставляют рассматривать эту группу как тип.

7. Мы не располагаем данными, которые позволяли бы сближать риккетсии и цистоцеты с вирусами.

8. Введенное Холмсом подразделение вирусов на вирусы животных, высших растений и бактерий бессодержательно противоречит принципам систематики и не отражает этапов эволюции вирусов.

9. Первой попыткой выделения классов вирусов на основе их подлинных свойств и их положения в природе является подразделение вирусов на классы: Eucrystallinae, Pseudocrystallinae, Gamaleyae, Arthropodophilae, Chlamydozoa.

10. При изучении вопроса о древности различных групп вирусов и о филогенетических взаимоотношениях между ними, наряду с морфологией, биохимией, физиологией и онтогенезом вирусов, должны быть использованы палеонтология, биогеография, а также сопоставление эволюции организмов, в которых паразитируют вирусы, с эволюцией самих вирусов. В статье приводятся примеры возможного использования некоторых из этих методов.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 25.IV.1952 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бернет Ф. М., Вирус как организм. М., 1947.
2. Дементьев Г. П. и др. Определитель птиц СССР. М., 1948.
3. Жданов В. М. и Коренблит Р. С. Систематика и номенклатура вирусов, ЖМЭИ, № 9, 1950.
4. Здродовский П. Ф. Морфология риккетсий в Сб. Риккетсии и риккетсиозы. М., 1948.
4а. Зильбер Л. А. Открытие ультравирусов в современной медицине Усп. совр. биол., 31, № 1, 1951.
5. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов, 1949.
6. Козо-Полянский Б. М. Новый путь биологии. М., 1924.
7. Менделеев Д. И. Основы химии, изд. 3-е, 1877.
8. Мошковский Ш. Д. Цитотропные возбудители инфекций и место риккетсий в системе Chlamydozoa. Усп. совр. биол., 19, № 1, 1945.
9. Рубцов И. А. Филогенетический параллелизм паразитов и хозяев и его значение в систематике и биогеографии. Успехи совр. биол., 13, № 3, 1940.
10. Рыжков В. Л. Новое в биологии. Харьков, 1927.
11. Рыжков В. Л. Курс загальної біології. Киев, 1929.
12. Рыжков В. Л. Выступление по докладу. Сб. трудов Всесоюзн. совещ. по изучению ультрамикр. и фильтр. вирусов. М., 1937.
13. Рыжков В. Л. Позеленение цветка с точки зрения механики развития. Ботан. журн. СССР, № 2—3, 1941.
14. Рыжков В. Л. Проблема эволюции ультравирусов. Микробиология, IX, № 4, 1942.
15. Рыжков В. Л. Основы учения о вирусных болезнях растений. М., 1944.
16. Рыжков В. Л. Фитопатогенные вирусы. М., 1946.
17. Рыжков В. Л. Проблема естественной системы вирусов. Журн. общ. биол., 8, № 3, 1947.
18. Рыжков В. Л. Опыт системы вирусов. Аннот. работ Ин-та вирусол. АМН СССР за 1949 г. М., 1950.
19. Рыжков В. Л. Опыт систематики вирусов. Вопр. мед. вирусол., вып. 3, 1950.
20. Рыжков В. Л. Тр. совещ. по проблеме живого вещества и развития клеток М., 1951.
21. Рыжков В. Л., Корачевский Ю. и Михайлова П. (Rischkov V., Koratschevsky J., Michajlova P.) Über die Fruchtverholzung bei Tomaten. Z. Pflanzenkrankh., 43, 496, 1933.
22. Самунджаева Э. М. К изучению отличительных особенностей переносчиков столбура в Грузии. Сообщ. АН Груз. ССР, 12, № 6, 1951.
23. Северцов А. Н. Современные задачи эволюционной теории. М., 1914.
24. Сухов К. С. и Вовк А. М. Идентификация желтухи кок-сагыза с желтухой астр и установление возможной ее связи со столбуром томата. ДАН СССР 48, № 5, 1945.
25. Сухов К. С. и Вовк А. М. Столбур пасленовых. М., 1949.
26. Andrewes C. H. Viruses and Linneus. Acta pathologica et microbiol. Scandinavica, 23, No. 3, 1951.
27. Andrewes C. H. Sind Viruse Organismen? Proc. II Internat. Poliomyelitis Konf. Kopenhagen, 1951.
28. Burnet F. M. Virus as organism, 1946.
29. Dana B. F. Occurence of big bud of tomato in pacific northwest. Phytopath., 30, No. 9/10, 1940.
30. Holmes F. O. Phytopathogenic viruses. Minneapolis, 1939.
31. Holmes F. O. Bergey's Manual of determinative bacteriology, Baltimore, 1948.
32. Holmes F. O. Indications of a new-world origin of tobacco mosaic virus. Phytopath., 41, No. 2, 1951.
33. Kunkel L., New hosts as a key to progress in plant virus disease research. Virus Diseases, New York, 1943.
34. Lillie. Psittacosis: rickettsia-like inclusions in man and in experimental animals. Publ. Health Rep. Wash., 45, 773, 1930.
35. Lipschütz B. Chlamydozoen-Strongyloplasmenbefunde bei Infektionen mit filtrierbaren Erregern. Knolle, Kraus, Uhlenhuth. Handb. path. Mikroorganismen, 8, 311, 1909.
36. MacKinney. Цит. по Limasset, Nomenclature des Virus phytopathogenes. Ann. des Epiphytes, 12, No. 8, 1946.
37. Maniero J. O microscopio electrônico como novo recurso da Geologia, Anais da Acad. Bras. de Cienc. 1951.
38. Maramorosch K. Direct evidence for the multiplication of aster-yellow virus in its insect vector. Phytopath., 42, No. 2, 1952.
39. Neuberg A. Die sprachliche Behandlung des Wortes Virus. Naturwiss., No 47/48, 1940.
40. Perrin J. Observations on the relationship between viruses of the psittacosis — lymphagranuloma group and the rickettsiae. J. Gen. Microb., 6, No. 1/2, 1952.
41. Prowezek G. Chlamydozoa. Arch. Protistenk., 10, 336.

42. Ruska H. Die Electronenmikroskopie in der Virusforschung. Handb. Virusforsch. II. Ergänzbd. Wien, 221, 1950.
43. Ruska H. und Menze C. Die Grösse von Typhusbakteriophagen und dem electronenmikroskopischen Bild, Kolloid. Z., **110**, 103, 1948.
44. Sikora H. Zur Morphologie der Rickettsien. Z. Hyg. u. Infektionskrankh., **124**, 3/4, 1942.
45. Steinhaus E. A. Nomenclature and classification of insect viruses. Bact. Rev., **13**, No. 4, 1949.
46. Thornberry H. H. A proposed system of virus nomenclature and classification Phytopath., **30**, No. 1, 1941.
47. Troil W. Das Virusproblem in ontogenischer Sicht (цит. по реферату в Oesterreich. Zool. Z.). Wiesbaden, 1951.
48. Valeaux W. The evolution of susceptibility to tobacco mosaic in Nicotiana Phytopath., **42**, No. 1, 1952.

ЗАМЕЧАНИЯ К СТАТЬЕ «МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ МЕМБРАННЫХ УЛЬТРАФИЛЬТРОВ ДЛЯ ПРЯМОГО СЧЕТА, СВОБОДНЫХ ОТ МИКРОБНЫХ КЛЕТОК» Е. А. РУКИНОЙ И В. И. БИРЮЗОВОЙ [1]

С. И. Кузнецов

Нужно только приветствовать инициативу авторов предложивших получать мембранные фильтры, не содержащие бактериальных клеток, однако авторы, к сожалению, в своей статье не приводят рецептуры, как можно такие фильтры изготовить.

Получается следующее положение — фильтры, изготовляемые фабричным способом, непригодны, а как их готовить — неизвестно.

Статья в известной мере дезориентирует в действительном положении вещей. Проанализируем приводимые авторами цифры проверки загрязнения фильтров. При расчете количества бактерий в 1 мл воды пользуются следующей формулой:

$$x = \frac{S \cdot N}{s \cdot v}$$

(Разумов, 1947. Методы микробиологических исследований воды изд. Водгео), где x — число бактерий в 1 мл, S — площадь фильтра в μ^2, N — среднее число бактерий в одном поле зрения, s — площадь препарата, просчитываемая с окулярным сетчатым микрометром, v — объем профильтрованной воды в 1 мл.

Авторы имели $S = 78{,}5 \times 10^6$ μ^2, $N = 2{,}5$ для поверхности фильтра и 20 для всей глубины, s — обычно бывает около 5000 μ^2; авторы в своей статье не указывают и v — 50 мл.

Подставляя эти цифры в формулу, получаем преувеличение действительного числа бактерий в 1 мл за счет клеток, лежащих на поверхности фильтра, всего на 805 и на 6400 при просчете всей глубины фильтра.

Как известно, в поверхностных водах рек и озер число микроорганизмов, учитываемых прямым методом, выражается сотнями тысяч, а зачастую доходит до 2—3 млн. в 1 мл; следовательно, то превышение числа бактерий за счет загрязнения фильтра, какое приводят авторы, практического значения не имеет, так как покрывается величиной погрешности анализа.

Далее, в инструкции по применению мембранных фильтров, составленной Разумовым, говорится, что нужно фильтровать такое количество воды, чтобы число клеток бактерий было 10—50 в маленькой площадке окулярного сетчатого микрометра. Такая площадь составляет 1/25—1/100 всей площади, покрываемой сеткой окулярного микрометра, т. е. в одном поле зрения должно быть примерно от 500 до 1000 клеток.

По данным Рукиной и Бирюзовой, загрязнение фильтра соответствует в среднем из 400 просчетов $2^1/_2$ клеткам в одном поле зрения, что составляет менее 0,5% от числа клеток, которые должны быть отфильтрованы из испытуемой воды, если следовать указаниям инструкции. При такой концентрации бактерий клетки, лежащие внутри фильтра, обычно уже не учитываются.

Не подлежит сомнению, что при рациональном подборе количества фильтруемой воды величина загрязнения мембранных фильтров бактериями ляжет в допустимую погрешность анализа.

Получено 10.IV.1952 г.

[1] Микробиология, XXI, вып. 1, стр. 60, 1952.

ЗАМЕЧАНИЯ К СТАТЬЕ «МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ МЕМБРАННЫХ УЛЬТРАФИЛЬТРОВ ДЛЯ ПРЯМОГО СЧЕТА, СВОБОДНЫХ ОТ МИКРОБНЫХ КЛЕТОК» Е. А. РУКИНОЙ И В. И. БИРЮЗОВОЙ[1]

А. С. Разумов

Статья Е. А. Рукиной и В. И. Бирюзовой, по моему мнению, способна в известной мере недостаточно точно информировать занимающихся «прямым» учетом бактерий в воде, пользуясь для их концентрирования мембранными фильтрами. При этом имеется в виду, очевидно, метод, опубликованный в свое время мной (Микробиология, 1, № 2, 1932).

Несомненно, наличие микробиальных клеток в теле фильтров является их пороком и возможным источником погрешностей при количественных определениях. Однако как велика этого рода ошибка?

Авторы, как максимум, нашли в поле зрения микроскопа (при увеличении $\times 15 \times 90 = 1350$) 41 клетку. Мной предлагается подсчеты проводить не в полях зрения микроскопа, а в небольших частях их — квадратиках окулярного сетчатого микрометра. При этом условии в счетном квадратике может встретиться, если исходить из приводимых авторами данных, не более одной клетки.

Недопустимым является подсчет микробов в таких препаратах, в которых имеется много счетных площадок, не содержащих клеток микробов или содержащих их лишь немногие единицы. Для обеспечения наибольшей надежности подсчетов мной рекомендуются определенные схемы концентрирования бактерий при анализах проб воды из различных водоемов (см. Разумов. Методы микробиологических исследований воды, Изд-во Ин-та «Водгео», 1947), требующие, чтобы в счетном квадратике число микробов находилось в пределах 10—50 клеток. Таким образом, снижение влияния рассматриваемой погрешности производится за счет увеличения концентрируемого объема воды, конечно, до известного предела, когда источником погрешности будет излишняя плотность препарата, затрудняющая точные подсчеты.

В конечном итоге, даже если иметь самый неудачный фильтр при 10 клетках микробов в счетном квадратике, ошибка выразится 10% и при 50 клетках — 2%, а так как большинство фильтров содержит в среднем 2,7 клетки в поле зрения[2] или менее 0,09 клетки в одном счетном квадратике, которых в поле зрения более 30, т. е. ошибка при 10 клетках в квадратике составит 0,9% и при 50 клетках — 0,2%, что не выше прочих источников погрешностей метода (например, при отмеривании объемов воды).

Несомненно наибольший процент ошибки подсчетов будет в случаях анализов вод, бедных бактериями (ключевые, родниковые, артезианские и тому подобные воды). В воде морей (В. С. Буткевич, А. С. Разумов и др.), где микробы исчисляются десятками, сотнями тысяч и даже миллионами в 1 мл, ошибки подсчетов от рассматриваемой причины находятся в указанных выше границах.

---

[1] Микробиология, XXI, вып. 1, стр. 60, 1952.

[2] Среднее получено из первых четырех фильтров, приведенных в статье, так как обычно бактерии на нижней поверхности не подсчитываются.

Неясно, кому адресована эта статья, если микробиологам, желающим изготовлять фильтры собственными силами, то надо сказать, что можно получать удовлетворительного качества фильтры и более простыми приемами (многократное фильтрование растворов нитроклетчатки и длительный отстой). Мне представляется нерациональным ориентировать микробиологов на эти работы при наличии государственной фабрики, изготовляющей исключительно мембранные фильтры, тем более, что их изготовление в лабораторных условиях стандартного качества связано со значительными трудностями.

Более правильным было бы требования авторов направить в адрес фабрики, завершив статью соответствующими техническими условиями.

Эти условия, конечно, не могут быть ограничены только исключением посторонних клеток и других частиц, имитирующих микробиальные клетки в теле фильтров. Следует выдвинуть и ряд других не менее важных требований к их качеству: отсутствие грубой сетчатой структуры, влияющей на равномерность распределения взвесей из воды (в том числе и клеток микробов) на поверхности фильтра, возможно более точная характеристика максимальных и средних размеров величины пор и некоторые другие.

Авторы пользовались консультациями инженера И. Б. Несвижского — директора экспериментальной фабрики мембранных фильтров Министерства коммунального хозяйства РСФСР.

Сообщены ли результаты обследования качества фильтров руководству фабрики или Министерству и что ими предпринимается для повышения качества выпускаемой продукции?

Заключение

1. Возможности применения мембранных фильтров весьма широки и далеко не исчерпаны.

2. Наша задача освободить микробиологов от мучительной работы по изготовлению фильтров собственными силами при наличии специализированного производственного предприятия.

3. Наша задача добиться того, чтобы это предприятие расширило ассортимент изготовляемых фильтров, в частности требующихся для специальных микробиологических работ (для «прямых» подсчетов микробов в воде, для изучения микробов особо малых размеров, вирусов и т. п., для получения стерильных растворов и др.).

4. Отсутствие контроля на содержание посторонних клеток и имитирующих их частиц в теле фильтров — явление нетерпимое.

Получено 14.IV.1952 г.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ АДАПТИВНЫХ ФЕРМЕНТАХ

М. Г. Крицман

«С того времени как появился дарвинизм, с неизменяемостью живой природы довольно быстро было покончено. Теперь не найдется на земном шаре серьезного ученого, который утверждал бы, что живая природа неизменна. Изменяемость живой природы и возможность ее изменения признается. Но до сих пор в науке причины и конкретные пути изменения природы организмов не известны настолько, чтобы по заданию можно было направленно изменять наследственность организмов».

Т. Д. Лысенко

Изучение процессов обмена у живых организмов с несомненностью выявило, что последние оказываются в состоянии ассимилировать из внешней среды новые необычные для них вещества, если к этому вынуждают их соответствующие условия среды.

Присутствие новых субстратов нередко приводит к возникновению в живом организме специфических ферментных систем.

Следовательно, расшифровка механизма образования и превращения ферментов может привести к познанию закономерностей, определяющих изменчивость живых организмов.

А. Н. Бах в свое время писал «...едва-ли кто станет оспаривать то положение, что между состоянием организма и работой его ферментов существует теснейшая связь, что всякое изменение в состоянии организма или вызывается или сопровождается изменением в работе его ферментов, а это дает возможность переходить из одного рода явлений к другому — от изменения состояния организма к изменению деятельности ферментов и обратно. Вполне очевидно, что точное знание этих взаимоотношений дало бы нам ответ на важнейшие вопросы физиологии и патологии, над разрешением которых бьется мысль исследователей». (цит. по изд. 1950 г.).

Следовательно, изучение закономерностей образования и превращения ферментов — иными словами, исследование адаптивных ферментов является важной задачей. Необходимо отметить, что изучение этих ферментов проводилось и проводится преимущественно на бактериальных и дрожжевых клетках. Сравнительно малочисленны исследования, посвященные изучению адаптивных ферментов у растений и животных. Объясняется это тем, что значительно легче экспериментально вызывать и наблюдать изменения биохимических процессов у микроорганизмов, чем у других представителей живых существ.

Прежде чем излагать данные, касающиеся учения об адаптивных ферментах, мы считаем необходимым сказать несколько слов относительно существующей в этой области терминологии. Известно, что Karström (1937—1938) ввел термин «адаптивный» и «конститутивный» фермент, причем адаптивными он предложил назвать ферменты, появляющиеся только после выдерживания микроорганизма в присутствии

специфического субстрата. Те ферменты, которые постоянно находятся в клетках и образуются последними «независимо» от наличия в среде специфического субстрата, были названы им «конститутивными».

Следует отметить, что такое деление является искусственным, не отображающим реально существующую действительность. Нет никаких оснований говорить о полной независимости «конститутивных» ферментов от специфического субстрата. Наоборот, такая зависимость была установлена рядом исследователей, в том числе и самим Карштремом (1937—1938). Известно, что инвертаза присутствует в клетке Bact. coli независимо от того, на каком субстрате культивировали этот микроб, однако исследованиями упомянутого автора было показано, что активность инвертазы сильно возрастает при наличии в культуральной среде сахарозы. Аналогичные данные были получены им при изучении «конститутивного» фермента глюкозимазы. Эти факты показывают, что в зависимости от наличия специфического субстрата происходят значительные количественные изменения «конститутивных» ферментов.

Для того чтобы избегнуть терминологической путаницы, мы в своем изложении будем применять термин «конститутивный» для тех ферментов, которые постоянно имеются в клетках данного вида. Ферменты, непостоянно существующие в клетке, могущие возникать и исчезать под влиянием изменившихся условий среды, будем называть «адаптивными».

При этом надо иметь в виду, что как «конститутивные», так и «адаптивные» ферменты зависят от изменения условий существования клеток, в частности от специфического субстрата. Однако влияние последнего на «конститутивные» ферменты приводит к количественным изменениям, выражающимся в изменении активности фермента, в то время как влияние на «адаптивные» обуславливает не количественные изменения, но самое их возникновение и исчезновение.

Известно, что образование адаптивных ферментов было установлено еще в конце прошлого столетия.

По данным Dienert (1900) штаммы дрожжевых организмов, ранее не обладавшие способностью расти в среде, содержащей в качестве единственного источника углерода галактозу, а также сбраживать этот сахар, после предварительного выращивания в его присутствии приобретали эту способность.

Указанную адаптацию на ранних этапах ее изучения рассматривали как специфическую способность дрожжевых клеток. Однако ряд дальнейших исследований показал, что различные виды бактерий также обладают способностью приобретать новые ферментативные функции.

Neisser (1906) установил, что культура Bact. coli при росте на бульоне, содержащем лактозу, первоначально не сбраживавшая этот субстрат, приобретала указанную способность после выдерживания в термостате в течение нескольких дней в присутствии лактозы. При пересеве адаптированной к лактозе культуры на среду, содержащую лактозу, происходило немедленное сбраживание названного субстрата. Вышеуказанные данные были подтверждены и расширены рядом исследований.

Обнаруженное Динертом (1900) и другими авторами адаптивное образование галактозимазы многими исследователями трактовалось как результат естественного отбора предсуществовавших вариантных форм, появлявшихся случайно и независимо от влияния субстрата.

Такая трактовка в известной мере была обусловлена тем, что постановка экспериментов не могла вскрыть появления новой ферментной системы у исследуемых штаммов бактерий и дрожжей.

К этому представлению особенно склонялся ряд исследователей после того, как Lewis (1934) сообщил, что описанный Massini (1907) адаптивный фермент лактаза в его опытах появлялся в результате приспособления, обусловленного естественным отбором.

Для выяснения вопроса; встречаются ли в культуре Bact. coli, росшей в отсутствие лактозы, клетки, обладающие ферментативной системой, катализирующей сбраживание этого сахара, или появление лактазы определяется только присутствием соответствующего субстрата, Льюис смывал водой культуру Bact. coil, выращенную на агаре, и исследовал при различных разведениях от 10^{-1} до 10^{-9}. Из этих разведений были сделаны посевы на синтетическую среду, содержащую лактозу, и на контрольные чашки Петри с синтетической средой, содержащей глюкозу. Для подсчета клеток были произведены посевы и на мясо-пептонный агар. Подсчет клеток показал, что число колоний на обычном агаре и на синтетической среде с агаром и глюкозой в больших разведениях было практически одинаковым.

На синтетической среде с агаром и лактозой рост наблюдался только при малых разведениях. На основании результатов своих исследований Льюис пришел к выводу, что способность сбраживать лактозу у штамма Bact. coli появляется независимо от присутствия лактозы и что появление фермента лактазы можно наблюдать в любых условиях, благоприятных для роста микробов. Появление лактазы этот автор рассматривает как результат естественного отбора предсуществовавших форм, а не как образование новой энзиматической системы.

Следует отметить, что по вопросу о природе ранее упомянутого фермента лактазы не существует единой точки зрения. Deere (1939a, 1939b) считал, что лактаза является конститутивным ферментом и что этот фермент можно обнаружить и в неадаптированных клетках Bact. coli.

Virtanen (1934) весьма настойчиво доказывал своими экспериментами, что лактаза — адаптивный фермент и его можно обнаружить у Bact. coli только после адаптации этих бактерий к лактозе.

По мнению Stewart (1926), появление способности у бактерий Bact. coli сбраживать лактозу после выдерживания их в присутствии этого сахара объясняется снятием какого-то ингибитора.

Кудрявцев (1939) сообщает, что под влиянием мальтозы, дрожжи, неспособные сбраживать этот углевод, приобретают эту способность. Однако он же одновременно указывает, что клетки, способные вызывать брожение мальтозы, могут возникнуть и в отсутствие в среде этого сахара, например в условиях углеводного голодания и что позднее такие клетки могут быть отобраны мальтозой.

Имеется ряд указаний, что ферментные системы, приобретенные микроорганизмами под влиянием факторов внешней среды, передаются по наследству. В работах Шпигельмана (1946a) приводятся данные, показывающие, что дрожжевые клетки, адаптированные к мелибиозе, продолжают сохранять способность сбраживать мелибиозу даже после того, как в дальнейшем выращиваются на среде, лишенной данного сахара.

Аналогичные закономерности описаны в работе Имшенецкого (1946) и др.

Косиков (1948—1950) показал, что приобретенная гибридами S. ellipsoideus × S. globosus способность сбраживать сахарозу и мальтозу может передаваться по наследству. Косиков (1951) также указывает на адэкватное воздействие специфического субстрата на наследственную изменчивость организма.

Сисакян, Глущенко, Васильева (1949) установили, что изменения ферментативного синтеза сахаров, возникшие у растений в результате вегетативной гибридизации, передаются по наследству.

Имеющиеся в литературе данные отчетливо показывают, что приобретенные в результате адаптации ферментные системы могут быть унаследованы рядом последующих поколений.

Это новое свойство, возникающее под влиянием внешней среды, за-

крепляемое по наследству Spiegelman (1946b), Monod (1949) пытаются объяснить с точки зрения вейсманизма, приписывая особую роль в этом процессе генам. Такими схоластическими представлениями они препятствуют решению проблемы с позиции диалектического материализма.

Вызывает удивление наличие большого числа разноречивых высказываний по поводу происхождения ряда адаптивных ферментов, в том числе и ранее упомянутого фермента лактазы у Bact. coli. Несмотря на то, что этот вопрос нельзя считать уже вполне выясненным, нет никаких оснований для вывода, который делает Stephenson (1951) и др., что внешние условия только отбирают варианты, а не обуславливают появления новой ферментной системы. Этот вывод тем более не обоснован, что в работах Yudkin (1932), Stephenson и Sticklend (1933), Stephenson и Yudkin (1936), Stephenson (1937), посвященных изучению образования адаптивной гидрогенлиазы муравьиной кислоты, Knox и Pollock (1944) по изучению фермента тетратианазы Hegartry (1938) и других, исследовавших ферменты, расщепляющие различные сахара, показано, что образование адаптивных ферментов происходило в то время, когда число клеток оставалось неизменным.

К этому необходимо добавить, что против представления о возникновении новой ферментативной способности в результате отбора вариантных форм говорит тот факт, что процесс приобретения новой ферментной системы происходит с чрезвычайной быстротой. Скорость образования адаптивных ферментов во многих случаях столь велика, что бесспорно исключается связь этого явления с размножением клеток.

Многими опытами было показано, что отмытые клетки, не содержащие определенного фермента, будучи суспендированы в растворе соответствующего субстрата, через час проявляют новую специфическую ферментативную способность. Бесспорно, этот срок слишком мал для размножения достаточного количества клеток.

По Дюбо (1948), процесс образования адаптивных ферментов не связан с клеточным делением. Однако, по его мнению, имеется прямая зависимость между образованием этих ферментов и синтезом новой протоплазмы.

Общеизвестно, что бактерии, помещенные в новую среду, перед клеточным делением увеличиваются в объеме. В течение этого периода, повидимому, происходит синтез нового фермента.

Все это указывает, что процесс адаптивного образования ферментов сопровождается накоплением нового клеточного материала, а не является результатом отбора вариантных или мутантных форм.

В опытах Gale (1946) было установлено, что различные штаммы Bact. coli, которые росли на среде, не содержащей ряда аминокислот (лизин, аргинин, орнитин, глутаминовая кислота и др.), не приобретали способности декарбоксилировать перечисленные аминокислоты (табл. 1). Они могли декарбоксилировать только глутаминовую кислоту.

Однако эти же штаммы, культивированные в среде, содержавшей 1% лизина или любую другую из перечисленных недостающих аминокислот, приобретали соответствующую специфическую энзиматическую способность. Тот факт, что интенсивность декарбоксилирования той или иной отдельно взятой аминокислоты практически мало отличалась от таковой при добавлении казеинового гидролизата (в котором находились и другие аминокислоты), показывает, что появление новой энзиматической способности обусловлено адаптацией к специфическому субстрату, а не вызвано улучшением питательной среды. Известное отклонение от указанной закономерности обнаружено только в опытах с аргинином, где активность декарбоксилазы аргинина много выше при добавлении гидролизата, чем при культивировании указанных бактерий в присутствии одного аргинина. Повидимому, для образования этой энзиматической системы требуются дополнительные факторы.

Таблица 1

Адаптивное образование у кишечной палочки декарбоксилазы аминокислот*

Декарбоксилазы	Штаммы Bact. coli	Без аминокислот	Добавлены к среде: лизин	аргинин	орнитин	глутаминовая к-та	гистидин	тирозин	гидролизат казеина
L (+)-лизин	86	4	210	—	4	—	—	—	194
L (+)-аргинин	86	0	—	27	—	—	—	—	330
L (+)-орнитин	86	3	—	—	225	—	—	—	145
L (+)-глутаминовая к-та	ТУ	45	—	—	—	88	—	—	100
L (—)-гистидин	86	0	—	—	—	—	7	—	18
L (—)-тирозин	НЕ	0	—	—	—	—	—	60	63

* Цифры выражены в Q_{CO_2}.

Следует отметить, что появление новой ферментативной способности у микроорганизмов удавалось наблюдать не только при культивировании в присутствии добавленного специфического субстрата; некоторые микроорганизмы проявляли новую ферментативную способность при их выращивании в средах, содержащих постепенно уменьшающиеся количества жизненно необходимых им субстратов.

Fildes, Gladstone, Knight (1933) наблюдали, что тифозные палочки Ebertela typhosa, ранее не обладавшие ферментной системой катализирующей синтез триптофана, приобретают способность его синтезировать из других аминокислот, если их длительно выращивать в среде, содержащей снижающиеся концентрации триптофана, вплоть до полного отсутствия его. То же было показано в опытах с дизентерийной палочкой — в отношении никотинамида.

Silvermann, Werkmann (1939) показали, что нескольких пересевов на среду, содержащую прогрессивно уменьшающиеся количества витаминов B_1, было вполне достаточным, чтобы микроорганизмы Propionibacterium pentosaceum приобрели способность синтезировать названный витамин.

Эти данные указывают на многообразие путей образования адаптивных ферментов.

Специфичность адаптивных ферментов

Как сказано, адаптивные ферменты обладают узкой специфичностью в отношении субстрата, вызывающего их образование.

Эта особенность была обнаружена уже давно при изучении адаптивного образования ферментов у различных штаммов Betacoccus arabinosaccus. Рядом исследований была выявлена узкая специфичность адаптивных ферментов по отношению к различным моносахаридам и полисахаридам (Карштрем 1937—1938). Особенно отчетливо эта специфичность была установлена при изучении ферментов, гидролизующих капсульные полисахариды пневмококков. Ферменты проявили весьма узкую специфичность к полисахаридам, дающим перекрестную реакцию со специфической антисывороткой. Существует представление, что адаптивные ферменты более специфичны, чем антитела, полученные при иммунизации экспериментальных животных антигенами. Узкая специфичность адаптивных ферментов, окисляющих креатин, установлена исследованиями Dubos и Miller (1937). Полученные данные иллюстрируются нижеприведенной таблицей.

Из приведенных данных видно, что введение метильных или ацетильных групп в молекулу креатинина делает этот субстрат недоступным для расщепления ферментом, возникшим в результате адаптации бактерий к креатинину. То же наблюдается при удалении метильной группы, находящейся в положении 3 или 5.

Таблица 2

Расщепление веществ, родственных креатину, адаптивными ферментами почвенных бактерий (Дюбо 1948)

Субстрат	Процент разложения ферментами	
	NC	HR
Креатинин	100	100
5-метилкреатинин	0	0
Диметилкреатинин	0	0
4 /или 5/-бензоилкреатинин . . .	0	0
5-бензилкреатинин	0	0
Гликоциамидин .	10	0
5-метилгликоциамидин	10	15
Ацетилкреатинин	10	0

Из данных Mirick (1943) известно, что ферменты, адаптированные к парааминобензойной кислоте, не превращают ортоаминобензойную кислоту. За последние годы было опубликовано несколько работ Stainier (1949—1950) и др., в которых доказана стериоизомерия адаптивных ферментов. Эксперименты были проведены с клетками Pseudomonas sp., адаптированными к *L*-триптофану. При этом было установлено, что окисление этого оптического изомера происходит практически без индукционного периода. Этими авторами также показано, что интенсивность окисления триптофана находится в зависимости от его концентрации. В этих же условиях рацемический *DL*-триптофан окислялся с значительно меньшей интенсивностью. Выяснилось, что при коротких сроках инкубации происходило окисление

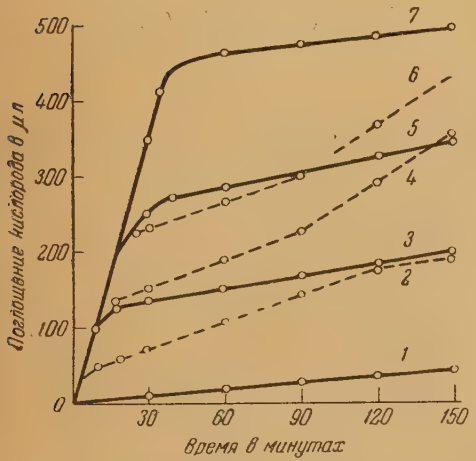


Рис. 1. Окисление *L* и *DL*-триптофана клетками Pseudomonas, адаптированными к *L*-триптофану.

1 — эндогенный: *2* — 1µM *DL*-триптофана; *3*—*1*µM *L*-триптофана; *4* — 2µM *DL*-триптофана; *5* — 2µM *L*-триптофана; *6* — 3µM *DL*-триптофана; *7* — 3µM *L*-триптофана

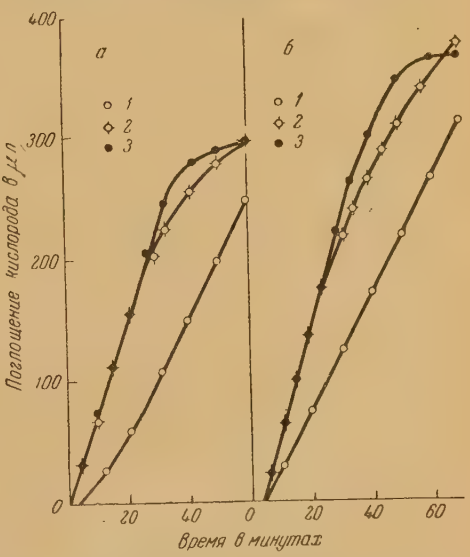


Рис. 2. Окисление *LD* и *DL*-триптофана клетками Pseudomonas, адаптированными к *DL*-триптофану в присутствии динитрофенола и без такового

а) *1* — 2µM *D*-триптофана; *2* — 2µM *DL*-триптофана; *3* — 2µM *L*-триптофана; *б*) *1* — 2µM *D*-триптофана; *2* — 2µM *DL*-триптофана; *3* — 2µM *L*-триптофана

только L-изомера (рис. 1). Одновременно с этим удалось доказать, что по мере окисления *L*-триптофана и освобождения *D*-триптофана происходит образование узкоспецифического фермента, способного катализировать окисление этого изомера. Отдельными опытами показано также,

что при добавлении D-изомера триптофана клетки Pseudomonas sp. быстро приобретают способность его окислять (рис. 2).

Повидимому, в этих условиях происходит синтез соответствующего фермента, на что в известной мере указывает торможение окисления *D*-триптофана при добавлении азида натрия и других ферментных ядов, которые, как известно, тормозят синтез белка и адаптивных ферментов.

В пользу вышеуказанного представления говорят результаты опытов, приведенные на рис. 3.

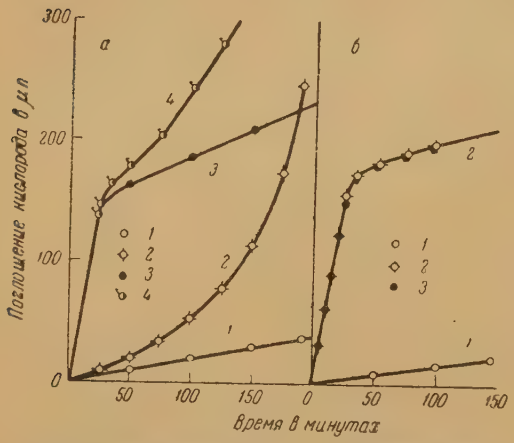


Рис. 3. Окисление *LD* и *DL*-триптофана клетками Pseudomonas, адаптированного к *L*-триптофану в присутствии динитрофенола и без такового

а) без ДНФ. *1* — эндогенный; *2* — 2 µМ *D*-триптофана; *3*—1µМ *L* -триптофана *4*—2µМ *DL*-триптофана *б*) М/4000 ДНФ. *1* — эндогенный 2µМ *D*-триптофана; *2* — 1µМ *L*-триптофана; *3* — 2µМ *DL*-триптофана

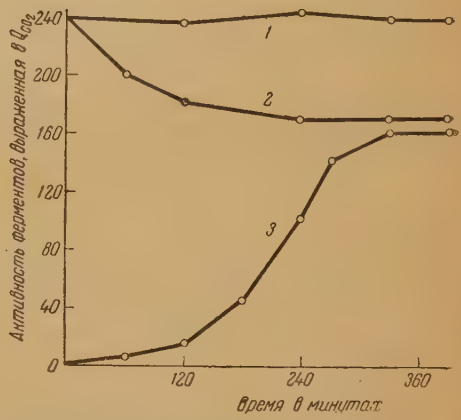


Рис. 4. Взаимосвязь между галактозимазой и глюкозимазой при адаптации дрожжевых клеток к галактозе без добавления азота извне

1 — глюкозимаза неадаптированных клеток; *2* — глюкозимаза адаптированных клеток: *3* — галактозимаза адаптированных клеток

Таким образом, мы видим, что имеющиеся в настоящее время экспериментальные данные отчетливо показывают, что адаптивные ферменты обладают весьма узкой специфичностью, вплоть до пространственной.

Механизм образования адаптивных ферментов

По вопросу о механизме возникновения у микроорганизмов новой ферментативной активности не имеется единой точки зрения.

Ряд доказательств новообразования ферментов в процессе адаптации клеток к специфическому субстрату приведен в работе Spiegelman (1946).

Указанный автор исследовал суспензию дрожжевых клеток, адаптированных к мальтозе, на способность к образованию галактозимазы при инкубации в присутствии галактозы. Эти опыты проводились как в присутствии экзогенного источника азота, так и в его отсутствие.

Оказалось, как видно из приведенной табл. 3, что образование адаптивного фермента галактозимазы в отсутствие экзогенного источника азота сопровождается падением активности мальтазы. При наличии в среде источника азота в виде солей аммония повышение активности галактозимазы не отражалось на активности.

Аналогичное явление наблюдалось в опытах с суспензией дрожжевых клеток адаптированных к галактозе, в присутствии мальтозы.

Следует отметить, что такая взаимозависимость установлена не только между «адаптивными», но и между «конститутивными» ферментами.

Как видно из рис. 4, при образовании адаптивного фермента галак-

тозимазы происходит падение активности фермента глюкозимазы. При наличии же в среде экзогенного источника азота синтез адаптивного фермента происходит путем использования азота среды. В этом случае активность конститутивного фермента глюкозимазы остается практически без изменения (рис. 5).

Таблица 3

Взаимозависимость адаптивных ферментов

Фермент	Максимальная активность $Q^N_{CO_2}$			
	без добавления азота		с добавлением азота	
	клетки адаптированные к сахарам			
	галактозе	мальтозе	галактозе	мальтозе
Галактозимаза	163	101	232	227
Мальтаза	86	182	229	248

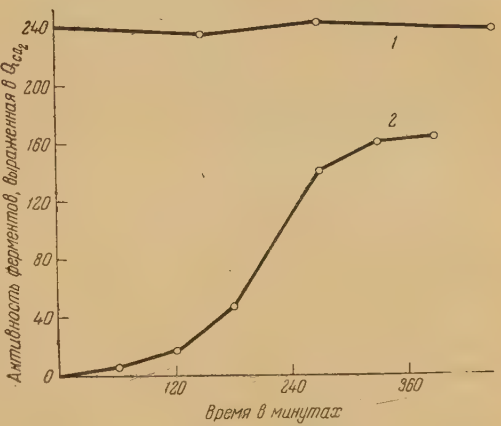


Рис. 5. Образование галактозимазы в присутствии добавленного извне азота

1 — глюкозимаза; *2* — галактозимаза

Результаты этих опытов доказывают, что образование адаптивных ферментов связано с новообразованием специфического белка и что клетки для построения белковой молекулы адаптивных ферментов активно утилизируют неорганический азот, трансформируя его в специфический белок фермента.

В случае недостатка экзогенного азота отсутствует компенсаторный ресинтез фермента клетки и образование адаптивного фермента сопровождается падением активности клеточных ферментов. В этом случае, повидимому, субстратом для построения нового фермента служит белок ферментов клетки. При наличии в питательной среде источника азота в количестве, достаточном для обеспечения как образования нового адаптивного фермента, так и ресинтеза, активность ферментов клетки не падает.

Рядом исследований показано, что факторы, тормозящие рост, размножение, дыхание (азид натрия, динитрофенол, арсенит и др.), нарушают и процесс адаптивного образования ферментов у микроорганизмов. Отчетливо это было показано в следующих экспериментах.

Дрожжевые клетки инкубировались в присутствии галактозы в атмосфере кислорода до тех пор, пока активность галактозимазы не достигала определенного уровня ($Q_{CO_2} = 40$ мкл), после чего через три часа добавлялся азид натрия в концентрации 50×10^{-3} моля; при этом прекращалось образование упомянутого фермента, интенсивность сбраживания галактозы оставалась на уровне, достигнутом до добавления азида. В пробе, где не был добавлен азид натрия, за такой же срок инкубации, как видно из рис. 6, образование было значительно бо́льшим.

В связи с тем, что образование адаптивных ферментов в отсутствие экзогенного источника азота сопровождается падением активности существующих ферментов в клетке, естественно, возникла мысль, что при этом происходит использование белка последних. В таком случае добавление азида натрия, который тормозит синтез адаптивных ферментов, должен задержать и падение активности конститутивных фермен-

тов. Действительно такой факт был обнаружен. Рисунок 7 характеризует наличие этой закономерности.

Ранее было показано, что если культуре дрожжевых клеток, адаптированных к галактозе, создать оптимальные условия для сбраживания глюкозы, то при этом происходит быстрое падение активности галактозимазы. Однако если через определенный промежуток времени добавить азид натрия, то прекращается падение активности галактозимазы, при этом интенсивность образования углекислоты, которая характеризует активность глюкозимазы, остается на уровне, достигнутом к моменту добавления азида натрия.

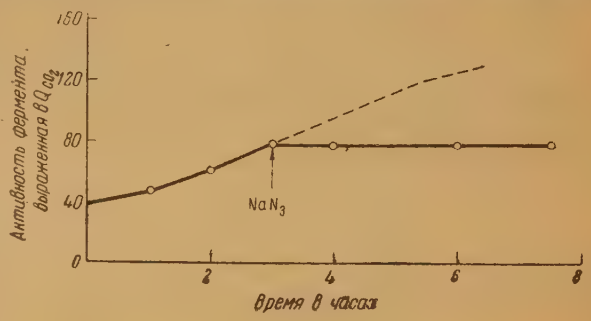


Рис. 6. Влияние азида натрия на анаэробное образование галактозимазы

При изучении образования адаптивного фермента, окисляющего бензойную кислоту у микобактерий Fritzgerald, Bernheim (1949) показали, что этот процесс тормозится следующими ферментными ядами: динитрофенолом, моноиодуксусной кислотой, азидом натрия.

Другими исследователями приводятся данные о полном торможении образования адаптивного фермента тетратианазы при добавлении динитрофенола даже в концентрации 0,0005 моля, или 0,025 моля азида натрия. Доказательством, что эти яды тормозят синтез упомянутого фермента, а не подавляют его активность, служит то, что добавление их к уже образовавшемуся адаптивному ферменту не тормозит его активность. Euler и Nielson (1925) в своей работе по адаптивному образованию ферментов указывали, что появление новой ферментной системы не связано с целостностью клеточной структуры и что последнее может происходить в бесклеточных ферментных системах и в присутствии ферментных ядов.

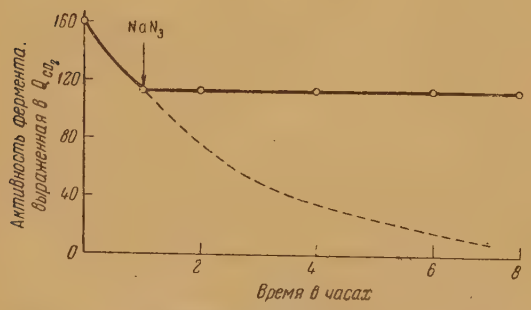


Рис. 7. Стабилизация активности галактозимазы азидом натрия

Эти данные не нашли подтверждения в работах других исследователей. Также ошибочными оказались указания Euler и Jansson (1927), что синтез адаптивных ферментов находится в зависимости от фактора брожения *Z*.

По мнению Abderhalden (1925) появление адаптивных ферментов, в том числе и галактозимазы, происходит в живой, метаболизирующей клетке и обусловлено синтезом нового фермента, а не образованием активаторов брожения.

Среди всех точек зрения по вопросу о природе адаптивных ферментов особняком стоит представление Sevag (1946), который отрицает образование адаптивных ферментов. Большинство известных и хорошо изученных процессов, связанных с участием адаптивных ферментов (галактозимазы, мелибиазы, креатиназы и др.), он трактует как ре-

зультат совместного действия узко специфических конститутивных ферментов с групповой специфичностью. Индукционный период, наблюдавшийся при адаптивном образовании галактозимазы, он рассматривает как время, необходимое для превращения галактозы ферментами с групповой специфичностью, имеющимися постоянно в клетке, после чего происходит превращение образовавшегося субстрата узко специфическим конститутивным ферментом (глюкозимазы).

Аналогичные рассуждения им используются для объяснения действия других адаптивных ферментов.

Ферментные яды (азид натрия, динитрофенол и др.), тормозящие процесс окислительного фосфорилирования, определенным образом задерживают образование адаптивных ферментов. В связи с этим возникает вопрос об источнике энергии, обеспечивающей синтез нового, адаптивного фермента. Исходя из этого довольно подробно проверялось участие кислорода в данном процессе.

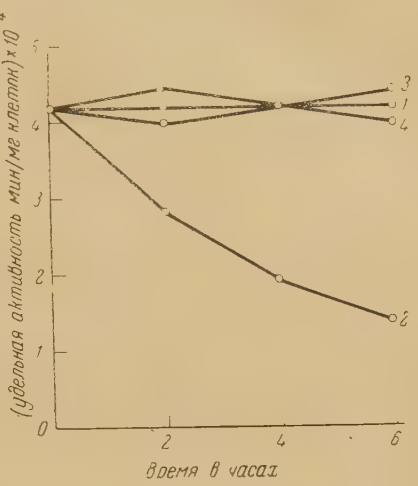


Рис. 8. Удельная активность фосфора нуклеипротеидной фракции

1 — с глюкозой; *2* — с глюкозой и сернокислым аммонием; *3* — с глюкозой, сернокислым аммонием и азидом натрия; *4*—с глюкозой, сернокислым аммонием и динитрофенолом

Stephenson и Yudkin (1936) указывали, что образование адаптивных ферментов происходит со значительной интенсивностью в аэробных и анаэробных условиях. В связи с этим они выдвинули представление, что образование адаптивных ферментов происходит вне зависимости от аэрации. Однако Schultz, Atkin и Frey (1940) получили противоположные результаты. Выводы ранее упомянутых авторов, по их мнению, являются ошибочными и связаны с методическими неточностями. В дальнейшем было показано, что одни бактериальные или дрожжевые клетки синтезируют адаптивные ферменты в аэробных условиях, а другие штаммы осуществляют этот процесс анаэробно.

Исходя из известного действия некоторых ферментных ядов на процесс образования адаптивных ферментов, представлялось вероятным, по аналогии с другими синтетическими процессами, что при адаптивном образовании ферментов используется энергия макроэргических фосфатных связей. Для выяснения этого вопроса были проведены исследования при помощи радиоактивного фосфора P^{32} (Spiegelman, 1946a).

Для этих опытов дрожжевые клетки выращивались при 30° в среде, содержащей P^{32}. После 48-часового роста устанавливалось равновесие меченого фосфора во всех фракциях. Клетки отделялись от среды, тщательно отмывались от свободного радиоактивного фосфора. Таким путем были получены клетки, в которых фосфор различных органических фракций был мечен радиоактивным P^{32}. Отмытые меченые клетки суспендировались в немеченом M/15 KH_2PO_4 с 4% глюкозы и инкубировались в анаэробных условиях шесть часов.

Было обнаружено, что в условиях активного сбраживания субстрата, но при отсутствии образования фермента происходил обмен только кислоторастворимого фосфора на фосфор среды, при этом практически без изменения оставалась удельная активность фосфора нуклеопротеидной фракции. При добавлении экзогенного источника азота, т. е. при условиях, наиболее благоприятных для синтеза ранее упомянутых фер-

ментов, наблюдалось резкое падение удельной активности фосфора нуклеопротеидной фракции.

Описанная закономерность отчетливо показана на рис. 8. Как вытекает из этого рисунка, падение удельной активности фосфора нуклеопротеидной фракции произошло только в пробе (*2*), содержащей глюкозу и сернокислый аммоний. В условиях активного обмена клеток, но в отсутствие синтеза нового энзима не происходит обмена фосфора нуклеопротеидной фракции. Азид натрия и динитрофенол, которые тормозят образование адаптивных ферментов и синтез белка, также тормозят обмен фосфора нуклеопротеидной фракции. Это указывает на взаимосвязь между упомянутыми процессами и на роль макроэргических фосфатных связей в процессе образования адаптивных ферментов.

Роль субстрата в образовании адаптивных ферментов

Из всех имеющихся данных по адаптивному образованию ферментов можно сделать однозначный вывод о том, что субстрат определяет их возникновение. Однако конкретно способ его участия в этом процессе не расшифрован. По этому вопросу имеются лишь многочисленные предположения. Можно без преувеличения сказать, что количество гипотез относительно механизма образования адаптивных ферментов равно числу исследователей, работающих в этой области знания.

Некоторые исследователи предполагали, что роль субстрата в образовании адаптивных ферментов аналогична роли антигена при образовании антител. Основываясь на представлении, что субстрат не определяет возникновения нового фермента, а только увеличивает образование его активной формы, Yudkin (1938) считал, что образование адаптивных ферментов происходит по закону действия масс, причем он допускал, что ферменты внутри клетки находятся в равновесии со своими предшественниками и что субстрат, соединяясь с ферментом, нарушает равновесие и тем самым вызывает его новообразование из предшественника.

Это представление является умозрительным и находится в противоречии с экспериментальными данными Шпигельмана и др. (1945), показавших, что образование адаптивного фермента зависит не только от присутствия субстрата, к которому адаптировалась данная клетка, но и определяется использованием азотистых веществ, в том числе белка ферментов клеток. Это лишний раз подчеркивает, что образование адаптивных ферментов связано с синтезом нового фермента.

По мнению же Yudkin (1938) образование адаптивных ферментов сводится к простому увеличению количества фермента за счет предшественника, а не к возникновению нового фермента.

Monod (1943) развивал представление, что роль субстрата в образовании адаптивных ферментов заключается в том, что он изменяет направление обычно текущих процессов синтеза ферментов клетки, он допускает, что в присутствии субстрата образовавшийся ферментсубстратный комплекс действует как новая единица. При этом образуются не только ферменты, ранее продуцировавшиеся клетками, но и несколько отличные от них. Без добавления нового субстрата прекращается упомянутый процесс и реакция образования ферментов возвращается к исходному состоянию.

Это представление, как и ранее приведенные гипотезы, не расшифровывает роли субстрата в адаптивном образовании ферментов; оно только подчеркивает, что адаптивные ферменты образуются как специфический ответ на присутствие соответствующего субстрата, и в известной мере подводит к пониманию узкой специфичности адаптивных ферментов. Позднее Monod (1947), разбирая описанное многими исследователями явление приобретения клетками новой ферментативной спо-

собности, пришел к выводу, что роль субстрата сводится к стимуляции синтеза белка фермента. Была также сделана попытка рассматривать адаптивные ферменты как метаболиты, скорость образования и разрушения которых меняется в зависимости от условий роста. При этом допускалось, что субстрат является источником молекул, необходимых для синтеза фермента.

Sliegelman, C. Lindegren и G. Lindegren (1944) выдвинули представление, что действие субстрата сводится к стабилизации фермента. Они указывали, что адаптивные ферменты должны рассматриваться как крайне неустойчивые системы. В качестве аргумента они приводили факт, что большинство адаптивных ферментов очень быстро теряет свою активность в отсутствие субстрата, к которому они были адаптированы. Однако этому представлению противоречат данные ряда работ, в том числе и авторов вышеуказанного представления, показавших наследование адаптивных ферментов.

Весьма своеобразное представление о механизме действия субстрата на образование адаптивного фермента было выдвинуто Deere (1939b), согласно которому проявление новой ферментативной способности при адаптации клеток к специфическому субстрату обусловлено изменением проницаемости клеток для данного субстрата, а не синтезом специфического белка фермента.

Против этого представления говорит ряд фактов и в первую очередь данные Harder, Norris (1910), показавших, что бесклеточный сок или экстракт, полученный из мацерированных дрожжевых клеток, выросших на галактозе, активно сбраживает этот субстрат; аналогично полученные препараты из клеток, не адаптированных к галактозе, не сбраживали этот сахар.

Spiegelman (1950), Blanchard (1950), изолировавшие и охарактеризовавшие различные ферменты, образовавшиеся в результате адаптации микроорганизмов к определенному субстрату, отчетливо показали, что приобретенная клетками новая ферментативная способность вызвана наличием специфического фермента, а не является результатом изменения проницаемости клеток.

Таким образом, мы видим, что все упомянутые работы не дают основания для окончательного вывода о роли субстрата в образовании новых ферментных систем. Они лишь характеризуют наличие связи между субстратом и процессом образования адаптивных ферментов.

Заключение

Из приведенного краткого обзора литературы видно, что в настоящее время накоплен уже довольно большой и разносторонний экспериментальный материал, который бесспорно указывает на широкое распространение и многообразие форм адаптивного образования ферментов, возникающих в живых организмах в ответ на воздействие факторов внешней среды.

Начатые в конце прошлого столетия исследования, показавшие образование новых адаптивных ферментов под влиянием внешних условий, за последние годы значительно углублены и уточнены.

В результате работ ряда исследователей добыт большой экспериментальный материал, расшифровывающий основные закономерности, лежащие в основе образования адаптивных ферментов. Этими исследованиями доказано, что возникновение новой ферментативной системы связано с синтезом специфического белка, а не является результатом отбора предсуществовавших форм клеток, содержащих эти ферментные системы.

В отдельных случаях удавалось выделить и охарактеризовать некоторые ферменты, вновь образованные в результате адаптации, и выяснить источники азота и энергии, необходимые для их синтеза.

Доказана весьма узкая специфичность адаптивных ферментов и возможность их наследования.

Имеющиеся данные показали, что не только адаптивные, но и так называемые конститутивные ферменты подчинены воздействиям факторов внешней среды. Ферменты клетки не остаются неизменными, они постоянно распадаются и вновь синтезируются в результате действия на них субстрата и взаимодействия их между собой.

В связи с этим нет достаточных оснований для проведения резкой грани между этими ферментами. Представляется вероятным, что в процессе длительной эволюции у каждого живого организма синтезировался определенный набор постоянно функционирующих ферментных систем, на которых влияние специфического субстрата выражается главным образом в том, что изменяется их активность.

Наряду с этим белки клетки приобрели способность в ответ на присутствие определенного субстрата образовывать соответствующий фермент путем синтеза нового белка или трансформации белков, существующих в клетке. Приспособление организма к питательной среде не ограничивается указанными превращениями. Доказано также, что при отсутствии жизненно необходимых субстратов, которые клетки обычно получают в готовом виде, появляется новая ферментная система, катализирующая синтез этих субстратов из других веществ, находящихся в окружающей среде.

В настоящее время становится очевидным, что углубленное изучение данной проблемы имеет существенное значение для установления конкретных путей направленного влияния окружающей среды на обмен веществ и для расшифровки механизма изменчивости.

В связи с принципиальным значением развития этой области биологии в ней постоянно происходила ожесточенная борьба различных идеологических направлений.

Особенно сильное тормозящее влияние на развитие правильных представлений оказала вейсманистско-морганов ская генетика, представители которой все многообразие процессов изменчивости объясняли изменениями самовоспроизводящихся единиц — «генов».

Эти метафизические представления, которые развивались главным образом в работах зарубежных исследователей, препятствовали правильной трактовке экспериментальных фактов.

Анализ полученных данных по адаптивным ферментам с точки зрения мичуринской биологии, дает возможность отбросить эту метафизическую «теорию» и раскрыть истинное значение данных по образованию адаптивных ферментов, что крайне важно для понимания и овладения закономерностями развития живых организмов.

Институт биологической и медицинской химии Академии медицинских наук СССР

Получено 25.VII.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

Бах А. Н. Собрание трудов по химии и биохимии. Изд. АН СССР, стр. 537, М., 1950.
Дюбо Р. Бактериальная клетка. Гос. изд-во иностр. литературы. М., 1948.
Имшенецкий А. А. Экспериментальная изменчивость микроорганизмов. Усп. совр. биол., XXI, 1946.
Косиков К. В. Гибридизация, как фактор изменчивости у микроорганизмов. Природа приспособления дрожжей к сбраживанию сахарозы. ДАН СССР, **63**, 573, 1948.
Косиков К. В. Наследование приобретенных признаков у микроорганизмов. Против реакционного менделизма-морганизма. Изд. АН СССР, стр. 231, 1950.
Косиков К. В. Направленная изменчивость ферментативных свойств дрожжей под влиянием специфического субстрата. ДАН СССР, **80**, 115, 1951.
Кудрявцев В. И. Эволюция ферментных свойств у дрожжей рода Saccharomyces. Микробиология, VIII, 395, 1939.

Лысенко Т. Д. Агробиология. Гос. изд-во сельхоз. литературы, изд. 4-е, доп., стр. 459, М., 1948.
Сисакян Н., Глущенко И. и Васильева Н. Наследование приобретенных биохимических признаков в семенных потомствах вегетативных гибридов. Проблемы биохимии в мичуринской биологии. Изд. АН СССР, 1949.
Стефенсон М. Метаболизм бактерий. Гос. изд-во иностран. литературы стр. 344, М., 1951.
Abderhalden E. Versuche über den Einfluss der Züchtung von Hefe auf Galactose auf die Vergärbarkeit dieses Kohlenhydrates durch diese. Fermentforschung, 8, 4, 474, 1926.
Blanchard M. L., Korkes S., Campillo A. and Ochoa S. Function of biotin in the metabolism of Lactobacillus arabinosus. J. Biol. Chem., **187**, 875, 1950.
Deere C. On the activation of the lactase of Escherichia coli mutabile. J. Bact., **37**, No. 5, 473, 1939a.
Deere C., Dulaney A. and Michelson I. The lactase activity of Escherichia coli mutabile. J. Bact., **37**, No. 4, 355, 1939б.
Dienert F. Sur la fermentation du galactose et sur l'accoutumance des levures à ce sucre. Ann. Inst. Pasteur, **14**, 139, 1900.
Dubos R. I. and Miller B. F. The production of bacterial enzymes capable of decomposing creatinine. J. Biol. Chem., **121**, 429, 1937.
Euler H. u. Jansson B. Über die Anpassung von frischen Kulturhefe an Galactose. Z. physiol. Chem., **169**, 226, 1927.
Euler H. u. Nilsson R. Über die Galactosevergärung durch Hefe nach Vorbehandlung mit dieser Zuckerart. Z. physiol. Chem., **143**, 89, 1925.
Fildes P. F., Gladstone G. P. and Knight B. C. The nitrogen and vitamin requirement of B. typhosus. Brit. J. Exp. Path., **14**, 189, 1933.
Fritzgerald R., Bernheim F. and Fritzgerald D. The effect of various compounds of adaptive enzyme formation in mycobacteria. Arch. Biochem., **20**, 83, 1949.
Gale E. F. The bacterial amino-acid decarboxylases. Adv. Enzymology, VI, 1, 1946.
Harder A. and Norris D. The fermentation of galactose by yeast and yeast juice. Proc. Roy. Soc., (B) **82**, 645, 1910.
Hegartry C. P. Physiologic youth as important factor in adaptive enzyme fermentation. J. Bact., **37**, 145, 1938.
Karström H. Enzymatische Adaptation bei Mikroonganismen. Ergebn. Enzymforsch., VII, 350, 1937/1938.
Knox R. and Pollock M. R. Bacterial tetrathinase adaptation without demonstrable cell growth. Biochem. J., **28**, 299, 1944.
Lewis J. M. Bacterial variation with special reference to behaviour of some mutable strains of colon bacteria in synthetic media. J. Bact., **28**, 619, 1934.
Lindegren C., Spiegelman S. and Lindegren G. Mendelian inheritance of adaptive enzymes in yeast. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S., **30**, 346, 1944.
Massini R. Ueber eine in biologischer Bezeichnung interressanten Kolistamm (Bacterium coli mutabile). Arch. Hyg., **61**, 250, 1907.
Mirick G. S. The oxidation of *p*-aminobenzoic acid and anthranillic acid by specifically adapted enzymes of a soil bacllius. J. Exp. Med., **78**, 255, 1943.
Monod I. Influence de la concentration des substrats sur la rapidité d'adaptation chez le B. coli. Ann. Inst. Past., **69**, 129, 1943.
Monod I. The phenomenon of enzymatic adaptation. Growth, II, 223, 1947.
Monod I. Adaptation, mutation and segregation in the formation of bacterial enzymes. Growth, II, 233, 1949.
Neisser M. Ein Fall von Mutation nach De-Vries bei Bakterien und andere Demonstrationen. Ztbl. Bakt., Abt. I, **38**, 98, 1906.
Sevag M. G. Enzyme problems in relation to chemotherapy. «Adaptation», mutation, resistance and immunity. Adv. Enzym., VI, 33, 1946.
Silvermann M. and Werkmann C. H. Adaptation of propionic acid bact. to vitamine B_1 synthesis including a method of assay. J. Bact., **38**, 25, 1939.
Spiegelman S. Nuclear and cytoplasmic factors controlling enzymatic constitution. Cold spring Harbor. XI. Symposia on quantitatie Biology, XI, 256, 1946a.
Spiegelman S. Inhibition of enzyme formation. Federat. Proc. Amer. Soc. Exp. Biol., 5, 99, 1946b.
Spiegelman S., Lindegren C. and Lindegren G. Maintenance an in case of a genetic interaction in the absence of the specific gene. Proc. Nat. Acad. Sci., **31**, 92, 1945.
Spiegelman S., Sussman M. and Taylor B. Isolation and characterization of two adaptive enzymes forms by yeast in response to maltose. Federat. Proc., Amer. Soc. Exp. Biol. 9, No. 1, part I, 120, 1950.
Stanier R. and Tsuchida M. Adaptive enzymatic patterns in the bacterial oxidation of tryptophan. J. Bact., **58**, 45, 1949.
Stanier R., Problems of bacterial oxidative metabolism. Bact. Rev., **14**, 179, 1950.
Stephenson M. Formic hydrogenlyase. Ergebn. Enzym., **6**, 139, 1937.

Stephenson M. and Stickland L. Hydrogenlyases. III. Further experiments on the formation of formic hydrogenlyase by Bact. coli. Biochem. J., **27**, 15, 28, 1933.
Stephenson M. and Yudkin J. Galactozymase considered as an adaptive enzyme. Biochem. J., 30, 506, 1936.
Stewart F. G. The nature of the factors inhibiting the fermentation of a sugar in the mutabile and paracolon forms of Bacillus Neapolitanus Emmerich. J. Hygiene, **25**, 333, 1926.
Schultz A. S., Atkin L. and Frey C. N. Influence of oxygen on the fermentation of maltose and galactose. J. Amer. Chem. Soc., **62**, 2271, 1940.
Virtanen A. On the enzymes of bacteria and bacterial metabolism. J. Bact., **28**, 447, 1934.
Yudkin I. Hydrogenlyases. II. Some factors concerned in the production of the enzymes. Biochem. J., **26**, 1859, 1932.
Yudkin I. Enzyme variation in microorganisms. Biol. Rev., **13**, 93, 1938.

ИЗ ИСТОРИИ ВИРУСОЛОГИИ

Полемика Д. И. Ивановского с М. В. Бейеринком

Г. М. Вайндрах и *Я. И. Шерман*

Обычно, изучая деятельность Ивановского как вирусолога, вспоминают его работу «О двух болезнях табака (1892)» и докторскую диссертацию «Мозаичная болезнь табака» (1902). Однако, кроме этих двух произведений основателя вирусологии, имеется еще одна работа по вирусологии, напечатанная в 1899 г. по-немецки в ответ на статью М. В. Бейеринка.

История этого выступления такова: в 1899 г. в журнале «Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten» (II Abt., Bd. V, H. 1). М. В. Бейеринком была помещена статья «Относительно Contagium vivum fluidum, как причины пятнистой болезни табачных листьев».

В этой статье Бейеринк описывал мозаичную болезнь табака и проводил ту мысль, что вызывается она каким-то инфекционным началом, невидимым в микроскоп, не растущим на обычных средах как в аэробных, так и в анаэробных условиях, растворимым, но живым. Этому вопросу или, вернее, этому открытию и была посвящена вся статья Бейеринка, так как, по его мнению, ею устанавливался его приоритет по изучению такого рода возбудителей.

Статье этой автор придавал, как видно, большое значение, так как уже в 1898 г. она была напечатана тоже на немецком языке в журнале Голландской академии наук. Ивановский тотчас откликнулся на это выступление Бейеринка и в ответ на статью его, напечатанную в первом номере немецкого журнала, уже в апрельском выпуске того же журнала поместил свой ответ голландскому ученому. Работа Ивановского называлась «Относительно мозаичной болезни табака» и была напечатана в этом же журнале (Bd. V. H. 8, 1899).

Эта статья, почти не известная русским авторам, изучавшим деятельность Дм. Ивановского, микробиолога и ботаника-фитопатолога, характеризует нашего ученого со стороны его личных свойств и в то же время показывает, как Ивановский готовился к работе и работал над своим замечательным трудом «Мозаичная болезнь табака».

Хотя Ивановский называет эту свою краткую статью заметками к работе Бейеринка, по существу она является уничтожающей критикой высказываний голландского ученого и устанавливает приоритет Ивановского по вопросу об открытии вируса «табачной мозаики» и вирусов вообще.

Раньше всего Ивановский подчеркивает, что Бейеринк смешивает две болезни табака — мозаичную с оспой (как она называлась в Крыму), или рябухой (украинское название), или пестрицей (бессарабское название). Ту же ошибку делал еще до Бейеринка другой ученый, работавший в Голландии над табачными заболеваниями,— Адольф Майер. На эту ошибку Майера Ивановский указывал еще в совместной своей работе с Половцовым «Рябуха, болезнь табака, ее причины и средства борьбы», появившейся в журнале «Сельское хозяйство и лесоводство» в декабре 1889 г. и в «Mémoires de l'Académie des Sciences de St.-Pétersbourg» в 1890 г.

Не входя в пространную дискуссию, Ивановский в интересующей нас статье излагает лишь выводы своих прежних работ, а именно: 1) обе болезни — мозаичная и оспа табака — поражают нередко одни и те же растения, причем Nicotiana rustica (махорка) поражается лишь второй; 2) мозаичная болезнь — заболевание заразное, чего, как он считает, нельзя сказать об оспе, и 3) оспу табака (рябуху) можно вызвать в течение одного дня на вполне здоровых растениях путем быстрого увеличения транспирации.

В дальнейшем Ивановский устанавливает свой приоритет относительно этого открытия.

Опять он делает это в виде кратких положений, ссылаясь на свою работу, сделанную им самостоятельно (без сотрудничества с В. В. Половцовым). Это следующие положения.

1. Профильтрованный через свечу сок больных растений сохраняет свои заразные свойства по меньшей мере в течение 10 месяцев, оставаясь все время совершенно прозрачным.

2. Заболевание привитого растения может быть перенесено с одного на другое в течение продолжительного срока. Таким образом, видно, что в и р у с (Ивановский употребляет именно это слово для обозначения заразного начала табачной мозаики) увеличивается в количестве в живущем растении.

3. Листья растений, страдающих мозаичной болезнью, сохраняют свои свойства заражать другие растения еще через 10 месяцев нахождения их в 95% алкоголе и даже тогда, когда этот материал, кроме того, хранится двое суток в эфире. Правда, при этих условиях инкубационный период гораздо продолжительнее, чем при заражении испытуемых растений соком листьев, не подвергшихся указанным воздействиям.

Ивановский пишет далее, что отрицательные результаты посева фильтрованного сока и микроскопирования заставляли его предполагать сначала о заболевании плазмы, но, однако, это предположение было отвергнуто им потому, что прививка и почвой, на которой растут пораженные мозаичной болезнью растения, вызывает заражение здоровых, свежих.

Из дальнейшего изложения видно, что Ивановский получил заражение, даже вводя здоровым растениям культуры бактерий, выросших при посеве сока больных мозаикой табачных листьев.

Излагает Ивановский эти свои наблюдения очень кратко в форме следующих положений:

1. При посеве на чашки $^1/_2$ капли сока больных мозаичной болезнью растений из выросших колоний были сделаны посевы в отдельные пробирки 10 колоний. Культурой из каждой заражались по три здоровых растения, но из зараженных заболели после введения им привитые лишь из двух пробирок (6 и 9) по истечении инкубационного периода в две-три недели.

2. Бактерии были перевиты на другие пробирки, и после трех последовательных перевивок этими культурами были заражены из каждой пробирки по шесть растений, причем типичной мозаикой табака заболели два растения из шести, привитых из пробирки, обозначенной № 9; из зараженных же культурой из пробирки № 6 заболело четыре растения, при типичных для мозаичной болезни поражениях в виде уродливых листьев, но при отсутствии мозаичной расцветки листьев.

Методика Ивановского значительно отличалась, как это он сам указывает, от методики Бейеринка. Последний пользовался для заражения здоровых растений нижними слоями агара из чашки с агаром, на поверхность которого был налит сок больных растений; Ивановский же использовал сок (больных растений), пропущенный через свечу Шамберлана, считая такую методику лучшей.

В заключение наш ученый указывает, что, кроме табака, мозаика поражала, как он видел, и один сорт фасоли (Phaseolus vulgaris).

Краткая статья Ивановского имеет большой интерес: она характерна для всей его научной деятельности. Он пишет только то, что он видит, и делает выводы, которые не могут быть опорочены или опровергнуты. Во всем изложении чувствуется, что автор не уступит ни в одном положении никаким авторитетам.

Кто внимательно изучал диссертацию Ивановского, найдет в этой заметке нечто в роде плана этой диссертации, нет лишь в ней критики представления Бейеринка о Contagium vivum fluidum. Да это и понятно. Статья Бейеринка о живом жидком контагии помещена в январском номере журнала, а Ивановский ответил ему уже в апрельском и, конечно, не мог и не успел произвести всех опытов, которые нужны были для доказательства корпускулярности возбудителя мозаики. Эти доказательства, основанные на тщательно обдуманной и, можно сказать, изящной методике, исчерпывающе представлены в диссертации, которая была опубликована три года спустя (в 1902 г.).

В этой же статье есть, как уже упоминалось, указания и на то, что культуры бактерий, выделенных из нефильтрованного сока, вызвали заболевание табачных листьев, но, сообщив о своих наблюдениях, Ивановский не делает определенных выводов, потому что он, как видно, считал необходимым провести дальнейшие опыты в этом направлении. Эти наблюдения и вошли в последнюю заключительную главу его диссертации (глава «об искусственной культуре микроба мозаичной болезни»). Правда, и эта глава заканчивается словами «Вообще же вопрос об искусственной культуре микроба, конечно, нуждается еще в дальнейшем исследовании». С нашей личной точки зрения, заболевание растений вызывалось не выращенными бактериями, а адсорбированным ими и пережившим при посевах вирусом.

Хотелось бы подчеркнуть, что Ивановский первым в литературе назвал вирусом инфекционное начало мозаики, придав ему общее обозначение для подобных фильтрующихся возбудителей.

Статья имеет и биографическое значение. Из нее видно, что Ивановский в 1893—1897 г. не изучал мозаику табака, и это понятно; в указанное время он заканчивал свою магистерскую диссертацию и организовал в университете и Технологическом институте преподавание физиологии растений и микробиологии; а к преподаванию Ивановский, как это известно из его биографии, относился более чем добросовестно, вкладывая все свои помыслы и все свое время в преподавательскую деятельность.

Лишь летом 1898 г., он опять занялся своей первой темой (о мозаичной болезни табака), в результате чего и появилась его диссертация.

Бейеринк отозвался немедленно на выступление Ивановского, и уже в следующем номере журнала появился его ответ. (Bd. V, H. 9, 1899). Он полностью признал приоритет Ивановского, подчеркнув, что работы Ивановского были напечатаны в 1892 и в 1894 гг. в издании русской Академии Наук, т. е. за 6—7 лет до его работы.

Правда, признавая приоритет Ивановского, он указывает, что и его методика обнаруживания вируса (он эту методику излагает) не уступает методике Ивановского, с чем мы в настоящее время, особенно после обстоятельного разбора ее в своей диссертации Ивановским, никак согласиться не можем.

Вслед за Ивановским и он называет возбудителя мозаики «вирусом», названием, в то время не привившимся в науке.

Получено 6.III.1952 г.

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

К. И. Рудаков. **Микроорганизмы и структура почвы.** Сельхозгиз, 1951, 45 стр.

Проблема почвенной структуры — один из важнейших разделов науки о почве и ее плодородии. По учению В. Р. Вильямса, структура является основой почвенного плодородия, так как только в структурной почве растение снабжается водой и пищей в потребных количествах. Структура почвы — это тот культурный фон земледелия, на который накладываются агротехнические мероприятия: обработка, удобрения, орошение и другие.

Естественно, что проблема структурообразования привлекает большое внимание исследователей и практиков в области сельского хозяйства. Интерес к ней особенно возрос в связи с осуществлением травопольной системы земледелия. Предметом изучения в последние годы являлись такие важные вопросы, как роль многолетних трав в улучшении почвенной структуры, строение почвенных агрегатов, коллоидно-химические явления в процессе оструктуривания почвы и ряд других.

Большое внимание к проблеме почвенной структуры уделяют в последние годы микробиологи, развивающие идеи Вильямса о роли микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности в образовании водопрочных агрегатов почвы.

Напомню о работах Гельцер, Канивеца, Мишустина, Рудакова и других авторов. Роли микроорганизмов в образовании структуры почвы посвящена работа Гельцер (1940 г.) [1]; обстоятельные обзоры литературы по этой проблеме даны Мишустиным (1941, 1951) [2].

Автор рецензируемой книги взял на себя большую и важную задачу — рассмотреть процессы формирования той части перегноя, которая участвует в образовании водопрочных агрегатов (так называемого активного перегноя), с целью «творческого вмешательства в эти процессы для овладения и управления ими» (стр. 5). Книга в основном является обобщением ряда ранее опубликованных автором статей в различных журналах за период 1946—1951 гг.

Первую главу «Микроорганизмы и создание прочной почвенной структуры» К. И. Рудаков начинает с изложения основных положений В. Р. Вильямса, касающихся роли анаэробных и аэробных бактерий в образовании ульминовой и соответственно гуминовой кислот, а также механизма создания прочного агрегата путем пропитывания его перегнойными кислотами, при последующем переходе «клея» в «цемент» под влиянием солей кальция и при промораживании.

В этой же главе дан обзор новейшей, преимущественно советской, литературы по вопросу об образовании перегнойных веществ и значении их в образовании водопрочной структуры почвы (работы Гельцер, Мишустина, Канивеца и других авторов).

Однако, приводя краткие аннотации работ, К. И. Рудаков ограничивается преимущественно негативной констатацией, что тому или другому автору не удалось выяснить механизм процессов гумусообразования и структурообразования. Между тем читателю было бы полезно знать и о тех «рациональных зернах истины», которые содержатся в работах и которые несомненно весьма важны для понимания процессов (например, об источниках перегноя, о роли микробных ферментов в образовании гумусовых веществ, о многообразных путях образования структуры под влиянием микроорганизмов).

Обращаясь к последнему положению, следует отметить, что к настоящему времени многочисленными фактами подтвержден классический, описанный В. Р. Вильямсом путь образования водопрочной структуры почвы под многолетними травами Корневые системы злаковых и бобовых трав дробят почву на мелкие структурные комочки, а образующиеся при отмирании корешков свежеобразованные перегнойные вещества, пропитывая комочки почвы и превращаясь в коллагель, придают им прочность. Наряду с этим путем, имеющим наиважнейшее значение в природных и в окультуренных почвах, имеют место и другие, более частные пути создания структуры

---

[1] Ф. Ю. Гельцер. Значение микроорганизмов в образовании перегноя и прочности структуры почвы. Сельхозгиз, 1940.

[2] Е. Н. Мишустин. Роль микробиологического фактора в образовании почвенной структуры. Микробиология, X, вып. 3, 1941; его же. Микробиологические процессы и структура почвы. Природа, № 11, 1951.

почвы. Так, микробиологами отмечено повышение количества водопрочных агрегатов путем сцепления распыленных почвенных частиц мицелием плесневых грибов или актиномицетов, а также путем склеивания их слизью бактерий. Повидимому, к этой же категории может быть отнесена водопрочная структура, создаваемая дождевыми червями путем давления стенок кишечника и пропитывания агрегата слизистыми выделениями червя.

Механизм этих путей образования водопрочных агрегатов не вскрыт микробиологами, а природа агрегатов характеризуется ими лишь одним показателем — водопрочностью. Остается неизвестным, удовлетворяют ли подобного рода агрегаты понятию В. Р. Вильямса об агрономически ценной структуре в отношении скважности, водопроницаемости и осуществления в почвенном комке противоположно направленных процессов — анаэробного внутри комка и аэробного на поверхности последнего.

Некоторые микробиологи пытаются все многообразие путей образования водопрочной структуры почвы свести к одному, описанному В. Р. Вильямсом, происходящему при помощи перегнойных веществ. Соответственно этими исследователями любые вещества, участвующие в образовании водопрочных агрегатов, относятся к группе перегнойных (к так называемому «активному» или «деятельному» перегною) лишь по одному признаку — клеящей способности.

Так, взяв за основу последний критерий, несомненно важный, однако явно недостаточный для определения перегнойных веществ, Гельцер ошибочно относит к последним продукты бактериального ресинтеза, не учитывая при этом, что хотя бактериальные слизи и способны клеить почву, однако по химической природе, строению и свойствам они не могут считаться идентичными перегнойным веществам.

Аналогичные ошибочные положения содержит и рецензируемая книга.

Прежде чем перейти к изложению своих материалов, касающихся механизма образования деятельного перегноя в почве, К. И. Рудаков критически рассматривает возможные пути образования перегноя за счет отмирания корней и за счет корневых выделений растения.

Обращаясь к факту, что под многолетними травами уже в первый год наблюдается улучшение водопрочной структуры. К. И. Рудаков считает, что это явление не может быть объяснено образованием перегноя за счет отмирания корешков, так как последнее в первый год жизни, по мнению автора книги, выражено слабо.

К. И. Рудаков отрицает и второй возможный путь образования деятельного перегноя — за счет корневых выделений растения, считая, что обоснованных доказательств существования таковых не имеется. Так, обращаясь к известному труду И. С. Шулова «Исследования в области физиологии питания высших растений» (1913), К. И. Рудаков отмечает в нем ряд методических погрешностей определения органических веществ в корневых выделениях, как-то: большие величины контрольных определений, значительные расхождения между параллельными определениями и ряд других. Эти замечания, несомненно, следует учитывать при рассмотрении данных Шулова, но они относятся к количественной стороне определений. Сам же факт присутствия углеводов в корневых выделениях растений с достаточной убедительностью показан Шуловым путем применения цветных реакций с резорцином $+H_2SO_4$.

Аналогичный характер имеют замечания К. И. Рудакова по определениям яблочной кислоты в опытах И. С. Шулова,— они также касаются количественных показателей; однако присутствие яблочной кислоты показано И. С. Шуловым в опытах и с аспарагином, и с минеральной питательной средой путем реакции с хлористым палладием.

Наконец, лишено оснований критическое отношение К. И. Рудакова к условиям стерильности опытов И. С. Шулова. Из описания последнего (см. главу IV, стр. 60—102 его книги) видно, с какой высокой требовательностью относился Шулов к условиям проведения своих опытов. Стерильность сосудов проверялась им путем высева проб субстрата (не более как за три-четыре дня до уборки растений) на МПБ с прибавлением аспарагина, глюкозы и пептона, а также на элективную среду для нитрификаторов. Единичные случаи заражения сосудов отмечены автором в тексте.

Я сочла необходимым привести настоящую справку с той целью, чтобы показать, что замечание К. И. Рудакова «...ни в одной из работ, выполненных до или после исследований Шулова, нет убедительных доказательств стерильности проведенных опытов»,— не может быть отнесено к работе И. С. Шулова. В целом доводы К. И. Рудакова не опровергают возможности присутствия органических веществ в корневых выделениях растений, а следовательно, и их возможного участия в образовании перегнойных веществ и в создании прочных агрегатов почвы.

Что же касается взгляда К. И. Рудакова о невозможности образования структуры в течение первого года жизни трав за счет отмирающих корешков, то и это положение тоже не обосновано автором. Всякий исследователь, работающий с корневыми системами сельскохозяйственных культур, может убедиться в том, что отмирание корешков происходит под молодыми, развивающимися растениями; это является непреложным законом диалектики развития организма.

Как же рисует К. И. Рудаков механизм структурообразования под многолетними травами в первый год жизни? По его представлению, между корневыми системами и микрофлорой имеет место не простое контактное соприкосновение. Микроорганизмы

не механически соприкасаются с корневой системой растения, но на некоторую глубину внедряются в ткани корня.

Группа микроорганизмов, обладающих ферментом протопектиназой, способна разлагать пектиновые вещества межклетников растения с превращением их в более простой, высокодисперсный пектин. Под действием пектиназы пектин превращается в ряд более простых продуктов, в числе которых имеются уроновые кислоты. Последние, будучи относительно устойчивыми к микробному воздействию, проникнув в бактериальную клетку, некоторое время сохраняются в ней.

Таким образом, по мнению К. И. Рудакова, «в результате взаимодействия протопектиназных бактерий и корней растения в зоне почвы, непосредственно прилегающей к корням, накапливается, с одной стороны, масса микробов, а с другой — галактуроновая кислота, в той или иной мере проникающая внутрь микробных клеток» (стр. 20). Отсюда К. И. Рудаков ставит вопрос: не могут ли при взаимодействии микробного протеина и уроновых кислот образоваться соединения, обладающие свойствами «активного перегноя», т. е. способные придавать прочность почвенным агрегатам.

Что правильно и что вызывает сомнения в этой концепции К. И. Рудакова?

Автором с сотрудниками вполне убедительно показано присутствие протопектиназных бактерий в почве. Полагаю, что явление проникновения в растительные ткани бактерий и разложение ими межклетников с образованием уроновых кислот, как продуктов распада пектиновых веществ — реально.

Взаимодействие уроновых кислот с присутствующими в среде продуктами распада белков и образование при этом уронопротеиновых конденсатов допустимы. Подтверждением последнего могут в известной мере служить опыты, изложенные в табл. 1 рецензируемой книги, где в смесях уроновых кислот с микробной суспензией и с автолизатом бактерий получены гели. Наконец, автором показано, что образовавшиеся гели (уронопротеиды), обладают клеящими свойствами и, таким образом, в природе описанный выше процесс способствует улучшению почвенной структуры.

Такова позитивная сторона концепции К. И. Рудакова. Но одновременно возникают следующие вопросы:

1. Насколько обоснован автором механизм внутриклеточного образования уронопротеинового комплекса?

2. Может ли быть отождествлен уронопротеиновый комплекс с ульминовой кислотой?

3. Каков масштаб и значимость явления оструктуривания почвы с помощью протопектиназных бактерий?

Перейду к рассмотрению указанных вопросов.

Высказывая мысль, что конденсация уронопротеида происходит внутри бактериальной клетки за счет поступающей в последнюю из внешней среды галактуроновой кислоты и микробного протеина (см. стр. 20, 28, 34), автор не обосновывает экспериментально это принципиально важное положение.

Так, ставя вопрос о возможности участия клубеньковых бактерий в формировании прочно-структурных агрегатов (стр. 34), автор на основании лишь данных, указывающих, с одной стороны на присутствие галактуроновой кислоты в автолизате клубеньковых бактерий, выращенных на галактозе, а с другой — на водопрочность почвенных гранул, приготовленных на этих автолизатах, делает следующий ответственный вывод: «Из этих данных ясно, что клубеньковые бактерии, получая галактозу, превращают ее внутриклеточно в галактуроновую кислоту и внутриклеточно же осуществляют синтез активного перегноя» (стр. 35). Какая связь между присутствием в автолизате галактуроновой кислоты и возможностью внутриклеточного образования уронопротеида, для читателя остается неясным.

В самом деле, из многих работ известно, что полиурониды — это продукт ресинтеза бактериальной клетки, обычный компонент микробной слизи, и образование их ничего общего не имеет с рисуемым К. И. Рудаковым явлением поступления этих веществ в клетку из внешней среды. Соответственно работы Hopkins, Peterson a. Fred (1931), нашедших галактуроновую кислоту в клубеньковых бактериях, а также мои исследования (1943), которыми обнаружено присутствие полиуронидов в плазме целлюлозных миксобактерий, не могут служить подтверждением гипотезы К. И. Рудакова о механизме внутриклеточного образования активного перегноя.

Необходимо также отметить, что автор книги отождествляет уронопротеиды с ульминовыми кислотами без достаточных доказательств, только по признаку участия тех и других в образовании водопрочных агрегатов. Сравнительные данные, характеризующие природу этих веществ, отсутствуют.

Не исключено, что уронопротеиновый конденсат может являться начальной формой гуминовой (и ульминовой) кислот типа меланоидинов, однако превращение его в ту или иную перегнойную кислоту происходит сложным путем, сопровождаясь усложнением уронопротеида.

Таким образом, как в области изучения механизма образования уронопротеиновых конденсатов, так и в изучении природы и свойств последних,— автору предстоят дальнейшие исследования; вопросы поставлены им несомненно весьма важные и интересные, однако в работе они в должной мере не обоснованы экспериментально.

Перейду к вопросу о масштабе образования водопрочных агрегатов при участии протопектиназных бактерий.

В ряде опытов К. И. Рудаков ставит целью показать, что в корневых системах развивающегося растения в присутствии протопектиназных бактерий образуются уроновые кислоты. Этот вывод в общем подтверждается аналитическими данными (табл. 4), однако приведенные количественные показатели содержания уроновых кислот чрезвычайно малы, и отсутствие описания методики их определения не позволяет судить о том, насколько найденные величины достоверны.

Бросается в глаза пестрота данных табл. 5, нарушающая положение автора о зависимости образования уроновых кислот от активности протопектиназы, продуцируемой теми или иными группами бактерий. Так, в опытах со штаммом № 495 и Bac. polymyxa 8523, которые отнесены автором к группе бактерий, интенсивно продуцирующих протопектиназу, содержание галактуроновой кислоты в песке оказалось практически равным таковому в варианте с Escherichia coli, который не продуцирует этот фермент.

Не останавливаясь на других опытах, имеющих задачей показать, что продукты, образующиеся при воздействии протопектиназных бактерий на корневые остатки клевера, могут быть использованы азотобактером, перейду к следующей главе «Протопектиназные бактерии и формирование агрегатов в природных условиях». Опыты имели целью показать эффективность протопектиназных бактерий в повышении количества водопрочных агрегатов под разными сельскохозяйственными растениями. Опыты проводились с дерново-подзолистой почвой из Горок Ленинских и с темносерой лесной почвой с Юрьев-Польского опытного пункта; последняя почва называется К. И. Рудаковым черноземом. Характеристика почв, показатели химического и механического состава, столь важные для понимания процесса структурообразования, в работе, к сожалению, отсутствуют.

На указанных почвах испытывались культуры бактерий, обладающие активной протопектиназой (Bac. polymyxa), слабоактивной (Bac. mycoides) и не образующей таковой (Escherichia coli).

В различных вариантах (полив растений бактериальными суспензиями, предпосевная бактеризация семян, опыты с дополнительным внесением корневых остатков клевера) по окончании опытов определялся агрегатный состав почв по Саввинову. На основании полученных данных автор приходит к выводу, что «при обработке семян протопектиназными бактериями удается значительно повысить процент водопрочных агрегатов уже на первом году жизни трав» (стр. 36).

Этот вывод может быть отнесен лишь к опытам с клевером, так как с овсом, пшеницей, льном, капустой, а также с тимофеевкой эффекты от внесения протопектиназных бактерий не обнаружились. К тому же не вполне удачное расположение цифрового материала (в табл. 8) не позволяет судить, за счет каких размеров агрегатов произошло повышение их процентного содержания.

Более обстоятельная характеристика агрегатного состава почв приведена в табл. 13 (по данным полевого опыта в Юрьев-Польском опытном пункте). Однако из рассмотрения этих данных следует, что увеличение количества наиболее важных в агрономическом отношении агрегатов размером 3—1 мм ничтожно: составляя 1—2%, оно находится в пределах точности метода Саввинова. Более заметен эффект от внесения протопектиназных бактерий на увеличение фракции 1—0,5 мм (6—10%).

Аналогичная картина выявляется и по данным табл. 15: они позволяют судить лишь о некотором эффекте от применения протопектиназных бактерий, сказывающемся в повышении общего количества водопрочных агрегатов размером 3—0,5 мм на 4—6%.

Тот же вывод напрашивается и при рассмотрении табл. 16, где превышение суммы агрегатов размером 3—0,5 мм в варианте с применением препарата протопектиназных бактерий составляет 5,7% (12,3 против 6,6% на контрольчом). Едва ли подобное улучшение структуры окажет решающее влияние на улучшение водного и пищевого режима почвы; напомню, что по учению В. Р. Вильямса предельное содержание распыленных частиц в структурной почве допускается примерно в 30%.

Таким образом, несколько улучшаясь, почва в опытах с применением протопектиназных бактерий оставалась все же слабоструктуренной. Здесь следует указать, что и под многолетними травами восстановление структуры в этих опытах проходило медленно; например, под травосмесью второго года пользования количество агрегатов размером 3—0,5 мм составляло лишь 16,1%. При отсутствии данных по коллоидно-химическим и механическим свойствам почвы, а также по состоянию трав не представляется возможным судить о причинах столь слабого воздействия многолетних трав на почву в этих опытах.

В целом, отнюдь не опровергая возможности положительного действия протопектиназных бактерий на улучшение почвенной структуры, мы все же считаем, что К. И. Рудаков склонен преувеличивать значение этого фактора.

Надо иметь в виду и то, что роль многолетних трав не может оцениваться лишь с точки зрения восстановления ими водопрочной структуры. Нельзя забывать о значении травяного поля как кормового угодия, а также о роли трав в восстановлении запасов питательных веществ для растения, в частности азота.

Поэтому, выдвигая положение, что «при обработке семян клевера протопекти-

назными бактериями можно повысить эффект, даваемый травяным полем, и, таким образом, сократить число полей, занятых в севообороте травосмесью» (стр. 38), К. И. Рудакову следует обосновать это положение с позиций, высказанных В. Р. Вильямсом и Т. Д. Лысенко: повысить интенсивность развития многолетних трав с тем, чтобы они в короткий срок выполнили свою роль как восстановители почвенного плодородия и как источник кормов, и тем самым сократить количество полей под травами в севообороте до минимума.

В заключение резюмирую свои соображения по рецензируемой работе.

1. Книга К. И. Рудакова, несомненно, посвящена весьма актуальному вопросу — роли микроорганизмов в образовании водопрочной структуры почвы.

2. Описан весьма интересный пример улучшения структуры почвы при участии группы протопектиназных бактерий. Повидимому, механизм процесса заключается в разрушении (при жизни растения или после его отмирания) межклетников растения с образованием уроновых кислот. При взаимодействии последних с продуктами распада белка образуются уронопротеиновые конденсаты, обладающие клеящими свойствами.

3. По нашему мнению, образование водопрочной структуры почвы при участии протопектиназных бактерий относится к категории явлений, описываемых в ряде работ микробиологов, где действующее начало не связано с собственногумусовыми веществами. Одним из доказательств последнего является малая устойчивость образовавшихся при участии протопектиназных бактерий агрегатов, которые в опытах К. И. Рудакова в условиях, допускающих активное микробное воздействие, значительно разрушались уже через один-два месяца (табл. 3).

4. Попытка автора показать, что в его опытах имело место образование особых форм перегнойных веществ — ульминовых кислот — не подтверждена соответствующими материалами, как и описываемый автором механизм образования уронопротеинового комплекса внутри бактериальной клетки за счет поступающей извне галактуроновой кислоты и микробного протеина.

5. Рекомендация автора использовать препарат протопектиназных бактерий для улучшения структуры почвы требует проверки в производственных опытах на различных по химическому и механическому составу почвах, с учетом не только структурного состояния почвы, но и размеров накопления корневых масс, азота и урожая сена.

М. Кононова

БИБЛИОГРАФИЯ ИНОСТРАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ*
(1950—1951 гг.)

1. ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

а. Общие работы, морфология, биология и систематика

Adams M. H. and Lark G. Mutation to heat resistance in coliphage 15. J. Immunol., 1950, vol. 64, No. 4, p. 335—347.

Adams W. R. and Pollard E. Combined thermal and primary ionization effects on a bacterial virus. Bull. Amer. Phys. Soc., 1951, vol. 26, No. 3, p. 39.

Anchel M., Hervey A. and Robbins W. I. Antibiotic substances from Basidiomycetes, VII. Clitocybe illudens. Proc. Nation. Ac. Sci., Washington, 1950, vol. 36, No. 5, p. 300—305.

Anderson E. H. The effect of oxygen on mutation induction by X-rays. Proc. Nation. Ac. Sci., Washington, 1951, vol. 37, No, 6, p. 340—349.

Anderson E. H. Heat reactivation of ultraviolet-inactivated bacteria. J. Bacter., 1951, vol. 61, No, 4, 389—394.

Anderson T. F. Bacteriorhages. Ann. Rev. Microbiol., 1950, vol. 4, p. 21—34.

Ark P. A. Phenotypic variations induced by chemicals in Corynebacterium michiganense and Xanthomonas juglandis. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 3, p. 293—297.

Barer G. R. The action of streptomycin on Bacterium lactis aerogenes. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1, p. 1—17.

Bartholomew J. W. and Mittwer T. The mechanism of the Gram reaction. I. The specificity of the primary dye. Stain Technol., 1950, vol. 25, No. 2, 103—110.

Bartholomev J. W. and Mittwer. T. Cell structure in relation to the Gram reaction as shown during lysis of Bacillus subtilis. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1. p. 39—45.

Bawden F. C. The multiplication of viruses. Sci. Progress, 1951, vol. 39, No. 153, p. 1—12.

Bawden P. C. Viruses: molecules or organisms? Discovery, 1951, vol. 12, No. 2, p. 41—43.

Bawden F. C. and Mixon H. L. The application of electron microscopy to the study of plant viruses in unpurified plant extracts. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1, p. 104—109.

Belyavin G. Cultural and serological phases of Proteus vulgaris. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1, p. 197—207.

Bertani G. Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic Escherichia coli. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 3, p. 293—300.

Beumer-Jochmans M.—P. Etude comparative du comportement a 44° de deux phages staphylococciques. Ann. Inst. Pasteur, 1951, T. 80, No. 5, p. 536—544.

Bhat J. V. The possible association of coliform bacteria with Clostridium lactoacetophilum in nature. Current Sci., 1950, vol. 19, No. 7, p. 210—211.

Библиография на българската микробиология, имунология и заразни болести за период 1879—1905. Сост. акад. проф. Ст. Ангелов, Ил. Куюмджиев, П. Панайотов и Ив. Григорьев. София, Българската академия на науките, 1951, 123 стр.

Bilaudelle H. Über die Spezifität und Wirkungsweise der Bakteriophagen. Zbl. Bakter., I. Orig., 1951, Bd. 157, H. 1/2, S. 123—125.

Bisset K. A. The cytology and life-history of bacteria. Edinburgh, Livingstone, 1950, XII, 136 p.

Bisset K. A. The differentiation of certain genera of Bacteriaceae by the morphology of the microcyst stage. J. Gen. Microbiol., 1950, vol. 4, No. 3, p. 413—416.

Bisset K. A. The development of the surface structures in dividing bacteria. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1, p. 155—158.

Bisset K. A. and Hale C. M. F. The development of bacterial flagella in the germinating microcyst. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1, p. 150—154.

---

* Составлена сотрудниками библиотеки Отделения биологических наук под руководством доктора биологических наук Т. К. Лепина.

Bisset K. A. and Hale C. M. F. The production of swarmers in Rhizobium ssp. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 3, p. 592—595.
Block H. International Bakteriologischer Nomenclaturcodex. Schweiz. Zeitschr. Path. u. Bakt., 1950, Bd. 13, Nr. 3, S. 358—383.
Bokkenheuser V. Etudes d'une nouvelle espèce anaérobie du genre Pasteurella: P. serophila n. sp. Ann. Inst. Pasteur, 1951, T. 80, No. 5, p. 548—551.
Bolcato V. Research on lacto-mannitic bacteria. Enzymologia, 1950, vol. 14, fasc.-1, p. 21—23.
Bömeke H. Nitrosomonas oligocarbogenes, ein Obligat autotrophes Nitritbakterium. Arch. Mikrobiol., 1951, Bd. 15, H. 3, S. 414—427.
Bornschein H., Dittrich W. und Höhne G. Zur Entstehung der Chemoresistenz bei Bakterien. Naturwissenschaften, 1951, Jg. 38, H. 16, S. 383—384.
Bortels H. Mikrobiologie und Witterungsablauf. Zbl. Bakt. u. Parasitenk., 1950, Bd. 155, H. 5/7, S. 160—170.
Boyd J. S. K. Observations on the relationship of symbiotic and lytic bacteriophage. J. Pathol. and Bacteriol., 1951, vol. 63, No. 3, p. 445—457.
Bresch C. Zur Reaktivierung von Bakteriophagen. I Mitteilung. Z. Naturforsch., 1950, Bd. 5b, H. 8, S. 420—422.
Brian P. W. Antibiotics produced by fungi. Botan. Review, 1951, vol. 17, No. 6, 357—430.
Bringmann G. Methoden der Selektion zur Steigerung der antibiotischen Wirksamkeit bei Penicillium notatum. Archiv Mikrobiologie, 1950, Bd. 15, H. 1, S. 85—115.
Bringmann G. Elektronenmikroskopische Studien über die Kernäquivalente und die Zellorganisation von Bacillus polymyxa Prazmowski und anderer Bazillen. Zbl. Bakter. I. Orig., 1951, Bd. 156, H. 8, S. 547—556.
Brown A. The action of some watersoluble carcinogens on bacteria. J. Infect. Diseases, 1951, vol. 89, No. 1, p. 59—75.
Brown C. H. Elimination of kappa particles from «Killer» strains of Paramaecium aurelia by treatment with chloromycetin. Nature, 1950, vol. 166, No. 4221, p. 527.
Brown J. S. The effect of photoreactivation on mutation frequency in Neurospora. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 2, p. 163—167.
Browning C. H. and Adamson H. S. Stable dwarf-colony forms produced by Staphylococcus pyogenes. J. Pathol. Bact., 1950, vol. 62, No. 3, p. 499—500.
Bryan A. H. and Bryan Ch. G. Principles and practice of bacteriology. Rev. 4th ed. New York, Barnes and Noble, 1951, XV, 410 p.
Bunting M. I. The effect of surface-active agents on color variation in ageing populations of Serratia marcescens. J. Bacter., 1950, vol. 59, No. 2, p. 241—250.
Burg A. S. Emission spectra of luminous bacteria. Biochim. Biophys. Acta, 1950, vol. 5, No. 2, p. 175—178.
Burnet F. M. The interaction of virus and cell surface. Proc. Roy. Soc., Sdr. B., 1951, vol. 138, No. 890, p. 47—65.
Burnett W. T., Stapleton G. E., Morse M. L. and Hollaender A. Reduction of X-ray sensitivity of Escherichia coli B/r by sulfhydryl compounds, alcohols, glycols and sodium hydrosulfite. Proc. Soc. Exp. Biol. and Medic., 1951, vol. 77, No. 4, p. 636—638.
Caldas L. R. et Constantin Th. Courbes de survie de levures haploïdes et diploïdes soumises aux rayons ultraviolets. C. R. Ac. Sci., Paris, 1951, T. 232, No. 25, p. 2356—2358.
Cassel W. A. The use of perchloric acid in bacterial cytology. J. Bacter., 1950, vol. 59, No. 2, 185—187.
Cassel W. A. A procedure for the simultaneous demonstration of the cell walls and chromatinic bodies of bacteria. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 2, 239—241.
Castellani A. Some little known bacteria. Zbl. Bakter., I Orig., 1951, Bd. 157, H. 1/2, S. 74—80.
Chapman G., Hillier J. and Johnson F. H. Observations on the bacteriophagy of Erwinia carotovora. J. Bacter., 1951, vol. 61, Nr. 3, p. 261—268.
Чиллаг А. Подходящая питательная среда для отделения грибов от бактерий. Acta Biologica, Budapest, 1950, т. 1, Fasc. 1—4, p. 401—406.
Chodat F. and Wassilieff N. Sur la dissociation le Pseudomonas fluorescens. Schweiz. Zeitschr. Pathol. u. Bakteriol., 1950, Bd. 13, No. 5, 541—546.
Christophersen J. und Precht H. Untersuchungen über die Temperaturabhängingkeit von Lebensprozessen bei Hefen. Biol. Zbl., 1950, Bd. 69, H. 7/8, S. 300—323.
Clifton C. E. Introduction to the bacteria. New York, McGraw-Hill Book Co., 1950, XII, 528 p.
Cohen M. Direct observation of formation of sexual bodies by combination of hyphae of two Phytophthora isolates. Phytopath., 1950, vol. 40, No. 1, p. 5—6.
Couch J. N. A new group of organisms related to Actinomyces. J. Elisha Mitchell Sci. Soc., 1949, vol. 65, No. 2, p. 315—318.

Couch L. N. Actinoplanes, a new genus of the Actinomycetales. J. Elisha Mitchell Sci Soc., 1950, vol. 66, p. 87—92.
Darpoux H. et Faivre-Amiot A. Recherches sur les antagonismes microbiens et sur les substances antibiotiques. Rev. Path. Vég. et Ent. Agric. France, 1950, T. 29, No 1/2, p. 102—113.
De Lamater E. D. The nuclear cytology of the vegetative diplophase of Saccharomyces cerevisiae. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 3, p. 321—332.
De Lamater E. D. Evidence for the occurrence of true mitosis in bacteria. Science, 1951, vol. 113, No. 2939, p. 477.
De Lamater E. D. and Mudd S. The occurrence of mitosis in the vegetative phase of Bacillus megatherium. Experim. cell. Res., 1951, vol. 2, No. 3, p. 499—512.
Demerec M. Induction of mutations in Escherichia coli by manganous chloride. Science, 1951, vol. 113, No 2939, p. 473—474.
Demerec M., Bertani G. and Flint J. A survey of chemicals for mutagenic action of E. coli. Amer. Naturalist, 1951, vol. 85, p. 119—136.
Demolon A. et Rozowska R. Sur la variabilité dans le genre Rhizobium leguminosarum Frank (Bact. Radic.). C. R. Ac. Sci., Paris, 1951, T. 232, No. 5, p. 372—375.
De Robertis E. and Franchi C. M. Electron microscope observation on the fine structure of bacterial flagella. Exper. cell. Res., 1951, vol. 2, No. 2, p. 295—296.
Desrosier N. W. and Esselen W. B. Attempts to increase the heat resistance of the spores of a putrefactive anaerobe by selection. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 5, p. 541—547.
Dickerman J. M. and Starr T. J. A medium for the isolation of pure cultures of cellulolytic bacteria. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 1, p. 133—134.
Dieckmann C. and Dittrich W. Die Tötung von Coli-Bakterien durch schnelle Elektronen eines 6 MeV-Betatrons. Strahlentherapie, 1950, Bd. 81, H. 2, S. 215—222.
Dienes L. Isolation of L. type cultures from Clostridia. Proc. Soc. Exp. Biol and Medic., 1950, vol. 75, No. 2, p. 412—415.
Dold H. und Gust R. Strukturzerstörungen durch Ultraschall. Zbl. Bakter., I. Orig., 1951, Bd. 157, H. 1/2, S. 140—144.
Drouhet E. et Gouteau M. Sur les variations sectorielles des colonies de Torulopsis neoformans. Ann. Inst. Pasteur, 1951, T. 80, No. 5, p. 456—457.
Drouhet E. et Mariat F. Sur le déterminisme du développement in vitro de Sporotrichum schencki sous la forme levure. C. R. Ac. Sci. Paris, 1951, T. 233, No. 5, p. 433—435.
Dufrenoy J. and Pratt R. Changes induced in Escherichia coli by cepharantine. J. Bacter., 1950, vol. 59, No. 2, p. 310—311.
Eisenstark A., McMahon K. J. and Eisenstark R. A cytological study of a pleonmorphic strain Azotobacter with the electron and phase microscopes and the Robinow nuclearstaining technique. J. Bacter., 1950, vol. 59, No. 1, 75—81.
Eisenstark A., Ward C. B., Jr. and Kyle T. S. A study of large bodies in Azotobacter agile. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 5, p. 525—531.
Ephrussi-Taylor H. Heredity in pneumococci. Endeavour, 1950, vol. 9, No. 34, p. 80—84.
Erlanson P. Determination of the sensitivity in vitro of bacteria to chemotherapeutic agents. With special reference to routine tests. Copenhagen, E. Munksgaard, 1951, 162 p.
Ewans E. E. and Kessel J. F. The antigenic composition of Cryrtococcus neoformans. J. Immunol., 1951, vol. 67, No. 2, p. 109—114.
Ewing W. H. and Hucks M. C. Two intermediate member of Enterobacteriaceae. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 3, p. 367—368.
Ezekiel W. N. «Funginert» — a designation for inherently fungus-resistant material. Science, 1950, vol. 112, No. 2905, p. 259—260.
Felix A. and Anderson E. S. Bacteriophages carried by the Vi-phage types of Salmonella typhi. Nature, 1951, vol. 167, No. 4250, p. 603.
Fildes P. The evolution of microbiology. Proc. Roy Soc. Ser. B, 1951, vol. 138, No. 890, p. 65—74.
Fischer G. On the occurrence of heat-resistant variants in a pure anticoli bacteriophage. Acta Pathol. Microbiol. Scand., 1950, vol. 27 Fasc., 2, p. 129—133.
Fischer G. Variations of an Escherichia coli virus (Anticolibacteriophage). Acta Pathol. Microbiol. Scand., 1950, vol. 27, No. 6, p. 937—940.
Fischer R. Wolle als Bakterienmodell. Biologia Generalis, 1951, Bd. 19, H. 3, 387—402.
Fischer R. and Seidenberg S. Homologous mechanism of bactericidal action and Gram-staining. Science, 1951, vol. 114, No. 2958, p. 265—266.
Foda I. O. and Vaughn R. H. Salt tolerance in the genus Aerobacter. Food Technol., 1945, vol. 4, No. 5, p. 182—188.
Ford H. F. and Babel F. J. Effect of incubation temperatures on the retention

of bacteriophage by a culture of Streptococcus lactis. J. Dairy Sci. 1950, vol. 33, No. 6, p. 466—472.
Fram H., Proctor B. E. and Dunn C. G. Effects of X-rays produced at 50 kilovolts on different species of bacteria. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 3, p. 263—267.
Frateur J. Essai sur la systématique des acetobacter. Cellule, 1950, vol. 53, No. 3, p. 287—392.
Fredericq P. Sur une souche d'Escherichia coli à la fois lysogène et antibiotique. Antonie Leeuwenhoek, 1950, vol. 16, No. 1, p. 41—44.
Fredericq P. Acquisition de propriétés antibiotiques nouvelles par la souche E. coli V sous l'action des bactériophages. T. 1, T. 5 et T. 7, Antonie Leeuwenhoek, 1951, vol. 17, No. 2, p. 102—106.
Fredericq P. Origine spontanée des mutants de E. coli V. produisant la colicine M. Antonie Leeuwenhoek, 1951, vol. 17, No 4, p. 227—231.
Fredericq P. Recherches sur l'origine des mutants de E. coli V. produisant la colicine M. C. R. Soc. Biol., 1951, T. 145, No. 11/12, p. 930—933.
Fredericq P. Spectre d'activité comparée des bactériophages. T. 1, T. 3, T. 5. et T. 7 sur diverses souches sensibles et leurs mutants résistants. C. R. Soc. Biol., 1951, T. 145, No. 1/2, p. 138—140.
Fredericq P. and Gratia A. Relation between colicines and bacteriophages of the group T. 1 — T. 7. Antonie Leeuwenhoek, 1950, vol. 16, No. 2, p. 119—121.
Freerksen E. Antibakterielle Werkstoffe aus Pflanzen. Zbl. Bakter., I Orig., 1951, Bd. 157, H. 1/2 S. 157—158.
Fulton I. W. Unilateral nuclear migration and the interactions of haploid mycelia in the fungus Cyathus sterrooreus. Proc. Nation. Ac. Sci. Washington, 1950, vol. 36, No. 5, p. 306—312.
Fulton R. W. Bacteriophages attacking Pseudomonas tabaci and P. angulatum. Phytopath., 1950, vol. 40, No. 10, p. 936—949.
Galloway L. D. and Burgess R. Applied mycology and bacteriology. Originally compiled by L. D. Galloway and R. Burgess. Rev. by L. D. Galloway. 3rd ed. London, Hill, 1950, VIII, 184 p.
Gamble S. J. R. and Orcutt F. S. Possible use of rose bengal agar as differential medium for the isolation of bacteria in the family Rhizobiaceae. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 2, p. 247.
Garen A. and Puck Th. T. Fhe first two steps of the invasion of host cells by bacterial viruses. II. J. Exp. Med., 1951, vol. 94, No. 3, p. 177—189.
Gavel L., von. Zum Problem der aktivierenden Wirkung subletaler Hitze auf Bakteriensporen. Archiv Mikrobiol., 1951, Bd. 16, H. 1, S. 28—39.
Gentile A. C. A study of the toxin produced by an isolate of Botrytis cinerea from Exochorda. Physiol. Plantarum, 1951, vol. 4, fasc. 2, p. 370—386.
Georgi E., Militzer W., Burns L. and Heotis J. On the existence of a cell granule in a thermorphilic bacterium. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Medic. 1951, vol. 76, No. 3, p. 598—601.
Goebel W. F. Studies on bacteriophage. II. Inhibition of lysis of Escherichia coli B by the somatic antigen of phase II Shigella sonnei. J. Exp. Med., 1950, vol. 92, No. 6, p. 527—543.
Gold A. H. and Jensen D. D. An electron microscope study of Cymbidium mosaic virus. Amer. J. Bot., 1951. vol. 38, No. 7, p. 577—579.
Gold W. and Watson D. W. Studies on the bacteriophage infection. Cycle I. A lytic activity assay for bacteriophages of Clostridium madisonii. J. Bacter., 1950, vol. 59, No. 1, p. 13—16.
Gold W. and Watson D. W. Studies on the bacteriophage infection cycle. II. Phage infection and lysis of Clostridium madisonii, a function of pH. J. Bact., 1950, vol. 59, No. 1, p. 17—27.
Grace J. B. The life cycle of sporocytophaga. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No 3, p. 519—524.
Grace J. B. Myxobacteria mistaken for nitrifying bacteria. Nature, 1951, vol. 168, No. 4264, p. 117.
Grant B. M. and Sherman F. G. Effect of X-radiation on the growth of Torulopsis utilis. Federation Proc., 1951, vol. 10, No. 1, p. 54.
Greceanu I. si Cherondache C. Cercetări asupra susei G 400 de Penicillium chrysogenum. Bucureşti, Acad. Rep. Pop. Române, 1950, 165 p.
Guild W. R. Irradiation of viruses with soft X-rays. Bull. Amer. Phys. Soc., 1951, vol. 26, No. 1, p. 15.
Handbuch der Virusforsthung. Hrsg. von R. Doerr und C. Hallauer. Ergnz. Bd. 2, Wien, Springer, 1950. VIII, 425 S. (Technic and application of roller tube cultures. Technic and application of drying of virus in the frozen state... Bearb. von F. M. Burnet and M. D. Eaton).
Hannay C. I. The sorological identity of a yellow-pigmented Streptococcus. J. Gen. Microbiol., 1950, vol., 4, No. 3, p. 294—297.
Harrrison A. P. Jr. and Hansen P. A. The bacterial flora of the cecal feces of healthy turkeys. J. Bacter., 1950, vol. 59, No. 2, p. 197—210.

Harrrison A. P., Jr. and Hansen P. A. Lactobacilli from turkeys. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 5, p. 543—555.
Hartman F. W., Piepes S. L. and Wallbank A. M. Virucidal and bactericidal properties of B-propiolactone. Federat. Proc., 1951, vol. 10, No. 1, pt. 1, p. 358.
Héden C. G. Studies of the infection of E. coli B with the bacteriophage. T. 2. Copenhagen, 1951, 126 pp. (Acta Pathol. Microbiol. Scand., Suppl. 88).
Heinzel E. Experimentelle Untersuchungen zur Ausbildung von Faden- und Kettenformen bei Bacterium prodigiosum. Archiv Mikrobiol., 1950, Bd. 15, H. 1, S. 119—136.
Herz W., Pates A. L. and Madsen G. C. The antimicrobial principle of Clematis discoreifolia. Science, 1951, vol. 114, No. 2956, p. 206.
Herčik F. Some observations about the morphology of bacteriophage. Exper., 1950, vol. 6, No. 2, p. 64—66.
Hewitt L. F. Effect of cultural conditions on bacterial cytology. J. Gen. Mycrobiol., 1951, vol. 5, No. 2, p. 293—297.
Hillier J. Electron microscopy of microorganisms and viruses. Ann. Rev. Microbiol., 1950, vol. 4, p. 1—20.
Hillier J., Mudd S., Smith A. G. and Beutner E. H. The «fixation» of electron microscopic specimens by the electron beam. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 5, p. 641—654.
Hinshelwood C. Decline and death of bacterial populations. Nature, 1951, vol. 167, No. 4252, p. 666—669.
Hosoya S., Soeda M., Komatsu N., Imamura S. Studies on the classification of antagonistic Streptomyces and isolation of chloromycetin. Jap. J. Exp. Med., 1950, vol. 20, No. 4, p. 473—480.
Houwink A. L. Caulobacter versus Bacillus spec. div. Nature, 1951, vol. 168, No. 4276, p. 654—655.
Houwink A. L., Kreger D. B. and Roelofsen P. A. Composition and structure of yeast cell walls. Nature, 1951, vol. 168, No. 4277, p. 693—694.
Hunter M. C., Stably G. L. and Myers Wm. G. Variations of Listeria monocytogenes produced by beta particles from radiophosphorus. Ohio J. Sci., 1950, vol. 50, No. 6 p. 253—259.
Ingram G. I. C. Classification of staphylococci by penicillin lysis. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1, p. 30—38.
Ingram G. I. C. Formation of clear zones with «sensitive» and «resistant» Staphylococcus aureus in penicillin plate assays. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1, p. 22—29.
James A. P. Pause in Lactobacillus arabinosus adaptation to tyrosine deficiency. Genetics, 1950, vol. 35, No. 1, p. 116.
Janke A. Acetobacter Lafarianum nov. nom. Archiv Mikrobiol., 1950, Bd. 15, H. 1, S. 116—118.
Janke A. Zur Systematik der Spross- und Schimmelpilze. Sydowia, 1950, Bd. 4, H. 1/6, S. 44—52.
Järvi O. and Levanto A. On the structure of bacterial cells as seen by the use of histochemical polysaccharide tests. Acta Pathol. Microbiol. Scand., 1950, T. 27, No. 3, p. 473—486.
Johns A. T. Isolation of bacterium, producing propionic acid, from the rumen of sheep. J. Gen. Microbiol., 1951, vol, 5, No. 2, p. 317—325.
Johnstone K. I., Crofts J. E. and Evans D. G. Single cell culture of Cl. welchii type. A morphologically changed by penicillin. Brit. J. Exp. Pathol., 1950, vol.31, No. 4, p. 562—565.
Jones A. S., Muggleton P. W., Stacey M. The gram complex in Clostridium welchii. Nature, 1950, vol. 166, No. 4224, p. 650—651.
Jones D. R. On the nomenclature and identity of the coliform softrot bacteria. Transact. Brit. Mycolog. Soc., 1950, vol. 33, pt. 1/2, p. 73—81.
Jude A., Nicolle P. et Ducrest P. Sur la présence simultanée de deux types bactériophagiques (D_1 et D_6) dans une culture de Salmonella typhi. Ann. Inst. Pasteur, 1951, T. 81, No. 3, p. 245—259.
Kaplan R. W. Mutationsauslösung bei Bacterium prodigiosum durch sichtbares Licht nach Vitalfärbung mit Erythrosin. Archiv Mikrobiol., 1950, Bd. 15, H. 1, S. 152—175.
Kausche G. A. und Lwowski W. Elektro-optische Untersuchungen zum Problem der Aggregationszustände von Tabakmosaikvirus-Protein in Lösung. Z. Naturforsch., 1951 Bd. 6 b, H. 2, S. 60—63.
Kayser F., Besson S. et Pouchol J. Effets de l'association du sulfanilamide avec certains diphénols ou triphénols sur le développement d'Escherichia coli in vitro. C. R. Soc. Biol., 1951, T. 145, No. 5/6, p. 423—442.
Kayser F., Besson S., Pouchol J. Sur les effets de l'association du sulfanilamide et du phénol sur le développement d'Escherichia coli in vitro. C. R. Soc. Biolog., 1951, T. 145, No. 5/6, p. 421—422.

Kelner A. Light-induced recovery of microorganisms from ultraviolet radiation injury, with special reference to Escherichia coli. Bull. New York Acad. Med., 1950, vol. 26, No. 3, p. 189—199.
Kelner A. Action spectra for photoreactivation of ultraviolet-irradiated Escherichia coli and Streptomyces griseus. J. Gen. Physiol., 1951, vol. 34, No. 6, p. 835—852.
Kleczkowska J. A study of phage-resistant mutants of Rhizobium trifolii. J. Gen. Microbiol., 1950, vol. 4, No. 3, p. 298—310.
Kleczkowski A. and Kleczkowska J. The ability of single phage particles to form plaques and to multiply in liquid cultures. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 15, No. 2, p. 346—356.
Klieneberger-Nobel E. Methods for the study of the cytology of bacteria and pleuropneumonia-like organisms. Quarterly J. Microscopical Sci, 1950, vol. 91, pt. 3, p. 340—347.
Klieneberger-Nobel E. Filterable forms of bacteria. Bact. Rev., 1951, vol. 15, No. 2, p. 77—103.
Klieneberger-Nobel E. The L-cycle: a process of regeneration in bacteria. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 3, p. 525—530.
Knaysi G. Elements of bacterial cytology. New York, Comstock Publ. Co., 1951, XVIII, 375 pp.
Koerber W. L., Greenspan G. and Langlykke A. F. Observations on the multiplication of phages affecting Streptomyces griseus. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 1, p. 29—37.
Köhler E., von und Bode O. Elektronenmikroskopische Untersuchung des Tabakmosaikvirus. Naturwiss., 1951., Jg. 38, H. 18, S. 431.
Kühlwein H. Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte der Myxobacterien. Archiv Mikrobiologie, 1950, Bd. 14, H. 4, S. 678—704.
Kulka D., Preston J. M. and Walker T. K. The photographic examination of giant colonies. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1, 18—21.
Latarjet R. Induction par les rayons X de la production d'un bactériophage chez B. megatherium lysogène. Ann. Inst. Pasteur, 1951, T. 81, No. 4, p. 389—393.
Latarjet R., Buu-Hoi N. P. and Elias C. A. Induction d'une mutation spécifique chez une bactérie par des cancerigènes hydrosolubles. Pubbl. Staz. Zool. Napoli, 1950, T. 22, p. 78—93.
Latarget R. Photo-restauration après irradiation X chez une bactérie lysogène. C. R. Ac. Sci., Paris., 1951, T. 232, No. 18, p. 1713—1715.
Lederberg J. Isolation and characterization of biochemical mutants of bacteria. Methods in medical research, 1950, vol. 3, p. 5—22.
Lederberg J. Prevalence of Escherichia coli strains exhibiting genetic recombination. Science, 1951 vol. 114, No. 2951, p. 68—69.
Leifson E. The flagellation of spirochetes. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 5, p. 678—679.
Leiner M. Wohlfeil M. und Schmidt D. Das symbiotische Bakterium in Pelomyxa palustris Greeff. I. Z. Naturforschung, 1951, Bd. 6 b, H. 3, S, 158—170.
Lembke A. und Lück H. Strukturuntersuchungen an Mikroorganismen. I. Anorganische Inhaltsbestandteile der Bakterienzelle. Zbl. Bakt. Parasitenk., 1950, Bd. 155, H. 5/7, S. 171—188.
Levaditi C., Vaisman A. et Henry-Eveno J. Etude morphologique des bactéries au moyen du microscope à contraste de phase. Action de la penicilline. Bull. Acad. Méd., 1950, vol. 134, No. 17/18, p. 369—377.
Lietz K. Beitrag zur Hefecytologie. Archiv Mikrobiol., 1951, Bd. 16, H. 3, S. 275—302.
Lindegren C. C. and Rafalko M. M. The structure of the nucleus of Saccharomyces byanus. Exper. Cell. Res., 1950, vol. 1, No. 2, p. 169—187.
Luria S. E. Mechanism of bacteriophage reproduction. Federat. Proc., 1951, vol. 10, No. 2, p. 582—584.
Liria S. E. and Human M. L. Chromatin staining of bacteria during bacteriophage infection. J. Bacter., 1950, vol. 59, No 4, p. 551—560.
Luyet B. J. A comparative study of the life cycles of lower protozoa and protophyta. Biodynamica, 1950, vol. 6, No. 125, p. 265—317.
Lwoff A. Conditions de l'efficacité inducatrice du rayonnement ultra-violet chez une bactérie lysogène. Ann. Inst. Pasteur, 1951, T. 81, No. 4, p. 370—388.
McCloy E. Unusual behaviour of a lysogenic Bacillus strain. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 3, p. XIV—XV.
McDonald I. J. and Frazier W. C. Variation in morphology of colonies of lactobacilli. J. Bacter., 1951, vol. 61, No, 5, p. 627—637.
McQuillen K. The interaction of streptomycin and Escherichia coli. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1 p. IX.
Mallett G. E., Koffler H. and Rinker J. N. The effect of shaking on bacterial flagella and motillity. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 6, p. 703—708.
Marshak A. Chromosome structure in Escherichia coli. Exper. Cell. Res., 1951, vol. 2, No 2, p. 243—251.

Marshak A. Structures in E. coli resembling chromonemata. Proc. Nation. Ac. Sci., Washington, 1951, vol. 37, No. 1, p. 38—41.
Mefferd R. B. and Campbell L. L. The activation of thermophilic spores by furfural. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 1, p. 130—132.
Meiklejohn J. The pure culture isolation of Nitrosomonas europaea. Transact. Fourth Int. Congr. Soil Sci., 1950, vol. 1, p. 195—197.
Meiklejohn J. Myxobacteria mistaken for nitrifying bacteria. Nature, 1951, vol. 168, No. 4274, p. 561.
Meyer-Pietschmann K. Lebendbeobachtungen an Myxococcus rubescens. Archiv Mikrobiol., 1951, Bd. 16, H. 2, S. 163—176.
Meyerhof O. and Fiala S. Pasteur effect in dead yeast. Biochim. Biophys. Acta, 1950, vol. 6, No. 1, p 1—12.
Meyn A. Die apathogenen Mycobacterien und ihre Wuchsformen auf Tuberkelbakteriennährböden. Z. Hyg., 1951, Bd. 133, H. 2, S. 127—131.
Mittwer T., Bartholomew J. W. and Kallman B. J. The mechanism of the Gram reaction. II. The function of iodine in the Gram stain. Stain Technol., 1950, vol. 25, No. 4, p. 169—179.
Mohanty U. Corynebacterium fascians (Tilford) Dowson; its morphology, physiology, nutrition and taxonomic position. Transact. Brit. Mycolog. Soc., 1951, vol. 34, pt. 1, p. 23—34.
Mori N. Sul nucleo dei batteri. Bollet. Soc. Italiana Biol. Speriment., 1950, vol. 26, No. 8, p. 1234—1236.
Møller V. and Birch-Andersen A. Some morphological changes caused by various treatments of bacteria, as studied by electron microscopy. Acta Pathol. Microbiol. Scand., 1951, vol. 29, fasc. 2, p. 132—143.
Mudd S., Smith A. G. Hiller J. and Beutner E. H. Electron and light microscopic studies of bacterial nuclei. III. The nuclear sites in metal shadowed cells of Escherichia coli. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 5, p. 635—639.
Mueller A. O., Schmitt H. P. and Mueller G. P. The classification of saprophytic mycobacteria consuming cholesterol. J. Tenn. Acad. Sci., 1951, vol.26, No. 2, p. 157—161.
Murray G. E., Gillen D. H. and Heagy F. C. Cytological changes in Escherichia coli produced by infection with phage T2. J. Bacter., 1950, vol. 59, No. 5, p. 603—615.
Murray. R. G. E. and Douglas H. C. The reproductive mechanism of Rhodomicrobium vannielii and the accompanying nuclear changes. J. Bacter., 1950, vol. 59, No. 2, p. 157—168.
Murrel W. G., Olsen A. M. and Scott W. J. The enumeration of heated bacterial spores. II. Experiments with Bacillus species. Austr. J. Scient. Res., Ser. B, 1950, vol. 3, No, 2. p. 234—244.
Nash H. A. and Reynolds D. S. Study of 123 strains of Bacillus polymyxa. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 1, p. 98—99.
Neill J. M., Abrahams I. and Kapros C. E. A comparison of the immunogenicity of weakly encapsulated and of strongly encapsulated strains of Cryptococcus neoformans (Torula histolytica). J. Bacter., 1950, vol. 59, No. 2, 263—275.
Newcombe H. B. and Whitehead H. A. Photoreversal of ultraviolet-induced mutagenic and lethal effects in Escherichia coli. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 3, p. 243—251.
Norden A. and Linell F. A new type of pathogenic Mycobacterium. Nature, 1951, vol. 168, No. 4280, p. 826.
Norén B. Notes of Myxobacteria in Sweden. Svensk Bot. Tidskr., 1950, Bd. 44, H. 1, p. 108—112.
Norman A. Inactivation of Neurospora conidia by ultraviolet radiation. Experim. cell. Res., 1951, vol. 2, No. 3, p. 454—473.
Norris R. E., Flanders Th., Tomarelli R. M. and György P. The isolation and cultivation of Lactobacillus bifidus: a comparison of branched and unbranched strains. Bacter., 1950, vol. 60, No. 6, p. 681—696.
Olsen A. M. and Scott W. J. The enumeration of heated bacterial spores. I. Experiments with Clostridium botulinum and other species of Clostridium. Austr. J. Scient. Res., Ser. B, 1950, vol. 3, No. 2, p. 219—233.
Orland F. J. A correlation of antigenic characteristics among certain bacteria of the Lactobacillus group. J. Infect. Dis., 1950, vol., 86, No. 1, p. 63—80.
Pant N. C. and Frankel G. The function of the symbiotic yeasts of two insect species, Lasioderma serricorne F. and Stegobium (Sitodrepa) paniceum L. Science, 1950, vol. 112, No. 2913, p. 498—500.
Petuely F. und Holasek A. Studien über die Färbbarkeit der Polkörperchen. Zbl. Bakt. Parasitenk., 1950, Bd. 155, H. 5/7, S. 207—215.
Pickenhain L. Sind Viren lebende Organismen ? Zur Stellung der Viren in der «natürlichen Ordnung der Lebewesen». Urania, 1950, Jg. 13, H. 2. S. 48—53.
Pierantoni U. Die physiologische Symbiose der Termiten mit Flagellaten und Bakterien. Naturwissenschaften, 1951, Jg. 38, , H. 15, S. 346—348.
Pijper A. Bacterial flagella. Nature, 1951, vol. 168, No. 4278, p. 749—750.

Pochon J. et Chalvignac M. A. Etude cytologique de Endosporus filamentosus. Ann. Inst. Pasteur, 1951, T. 80, No. 5, p. 514—516.
Poetschke G. und Bommer W. Phasenkontrast-mikroskopische Lebendbeobachtungen zur Morphologie der Streptokokken. Zbl. Bakt. Parasitenk., 1950, Bd,155, H. 2/4, S. 140—152.
Pollard E. and. Forro F. The inactivation of bacteriophage by ionizing radiation. Arch. Biochemistry, 1951, vol. 32, No. 2, p. 256—273.
Pollard E. and Reaume M. Thermal inactivation of bacterial viruses. Arch. Biochemistry, 1951, vol. 32, No. 2, p. 278—287.
Preuner R., Prittwitz T., von und Gaffron. Über Feulgenpositive Körper in Bazillen und Bakterien und ihr Verhalten gegenüber Streptomycin und Penicillin. Zbl. Bakter., I Orig., 1951, Bd. 157, H. 3/4, S. 244—250.
Pringsheim F. G. The Vitreoscillaceae: a family of colourless, gliding filamentous organisms. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1, 124—149.
Proom H. and Knight B. C. J. G. Bacillus pantothenicus (n. sp.). J. Gen. Microbiol., 1950, vol. 4, No. 3, p. 539—541.
Putham F. W. Molecular kinetic and electrophoretic properties of bacteriophages. Science, 1950, vol. III, No. 2888, p. 481—488.
Quanjer H. M. and Thung T. H. International committee on nomenclature and classification of plant viruses. Tijdskr. Plantenziekten, 1950, vol. 56, No. 4 p. 286—287.
Ranganathan B. and Subraniam M. K. The riboflavin excreting mutant and the problem of variability in yeasts. J. Sci. and Indust. Res., India, 1950, vol. 9 B, No. 1, p. 4—11.
Raper K. B. Isolation, cultivation and conservation of simple slime molds. Quart. Rev. of Biology, 1951, vol. 26, No. 2, p. 169—190.
Reese E. T., Levinson H. S., Downing M. and White M. L. Quartermaster culture collection. Farlowia, 1950, vol. 4, No. 1, p. 45—86.
Rice T. B. A textbook of bacteriology . 4th ed. Philadelphia & London, W. B. Saunders, 1950, XII, 603 pp.
Richard O. Zur Identifizierung der beweglichen Buttersäurebakterien. Schweiz. Zeitschr. Path. u. Bakt., 1950, Bd. 13, No. 5, S. 560—565.
Richou R., Gerbeaux C. et Schlaepfer J. Sur l'action bactériostatique et bactéricide in vitro de différents mélanges d'antibiotiques. C. R. Ac. Sci., Paris, 1951, T. 233, No. 5, p. 454—456.
Richou R. et Gerbeaux C. Sur les propriétés antidotiques des filtrats des culture de Penicillium notatum, d'Actinomyces griseus et de Bacillus subtilis à l'égard de la staphylotoxine. C. R. Ac. Sci. Paris, 1951, T. 232, No. 23, p. 2154—2155.
Rinker J. N. and Koffler H. Preliminary evidence that bacterial flagella are not «polysaccharide twirls». J. Bact., 1951, vol. 61, No. 4, p. 421—431.
Rita G. e Silvestri L. G. Studio morfologico delle modificazioni del cosidetto nucleo in cellule batteriche infettate con virus (batteriofagi) I. Escherichia coli e virus della serie T. Bollet. Soc. Ital. Biol. Speriment., 1950, vol. 26, No. 6, p. 954—957.
Robinow C. F. Behavior of the plasma membrane and cell wall of bacillus cells in certain staining procedures. J. Nation. Cancer Inst., 1950, vol. 10, No. 6, p. 1374.
Robinow C. F. Observations on the structure of bacillus spores. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 3, p. 439—457.
Roelofsen P. A. Cell-wall structure in the growth zone of Phycomyces sporangiophores. II. Double refraction and electron microscopy. Biochim. Biophys. Acta, 1951, vol. 6, No. 3, p. 357—373.
Roemer G. B. Über die Hitzeresistenz von Mikroorganismen. Zbl. Bakter. I. Orig., 1951, Bd. 157, H. 1/2, S. 153—156.
Rogosa M. and Mitchell J. A. Induced colonial variation of a total population among certain Lactobacilli. J. Bacter., 1950, vol. 59, No. 2, p. 303—308.
Rubin B. A. Radiation microbiology: Problems and procedures. Nucleonics, 1950, vol. 7, No. 3, p. 5—20.
Salmon J. and Welsch M. Autophagie et autolyse chez Escherichia coli. C. R. Soc. Biol., 1951, T. 145, No. 9/10, p. 776—778.
Salton M. R. J. and Horne R. W. Studies of the bacterial cell wall. II. Methods of preparation and some properties of cell walls. Biochim. Biophys. Acta, 1951, vol. 7, No. 2, p. 177—197.
Salton M. R. J., Horne R. W. and Cosslett V. E. Electron microscopy of bacteria treated with cetyltrimethylammonium bromide. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 2, p. 405—407.
Sarles W. R., Frazier W. C., Wilson J. B. and Knight S. G. Microbiology. Harper and Brothers, 1951, XI, 493 pp.
Savage M. C. and Florey H. W. Induced bacterial antagonism. Brit. J. Exp. Pathol., 1950, vol. 37, No. 1, p. 17—29.
Scardovi V. Un nuovo solfo-batterio fotosintetizzante: Rhodopseudomonas vannielii n. sp. Ann. Microbiol., 1950, vol. 4, No. 4, p. 77—102.

Schanderl H. Über die natürliche und künstliche Verwandlung von Schimmelpilzen und Hefe in Bakterien. Mikroskopie, 1951, Bd. 6, H. 5/6, S. 146—157.
Schmager A. Beschreibung eines neuen farbstoffbildenden saprophytären Corynebakteriums, Corynebacterium citreum. Zbl. Bakter., I Abt. Orig., 1950, Bd. 155, H. 2/4, S. 127—129.
Schmager A. Über Züchtungsversuche von Phagen, die aktiv gegen grampositive Milchsäurestäbchen sind. Z. Hyg. Infektionskrankh., 1951, Bd. 132, H. 6, S. 536—539.
Schmager A. und Kludas M. Morphologische Studien an Corynebakterien mit dem Phasenkontrastmikroskop. Zbl. Bakter., I Abt. Orig., 1951, Bd. 156, H. 7, S. 502—507.
Schwartz W. Mikrobiologie als selbständiges Teilgebiet der Biologie. Naturwiss. Rundschau, 1950, Bd. 3, No. 7, S. 305—308.
Seeliger H. The position of Bacillus kandiensis var. kandiensoides (Castellani). J. Bacter., 1951, vol. 61, Nr. 3, p. 376—378.
Seibert F. B. Constituents of Mycobacteria. Ann. Rev. Microbiol., 1950, vol. 4, p. 35—52.
Shew D. I. and Hodge A. J. Electron microscope studies on starter cultures and bacteriophages. Austr. J. Dairy Technol., 1950, vol., 5, No. 3 p. 99—102.
Slack J. M., Ludwig E. H., Bird H. H. and Canby C. M. Studies with microaerophilic Actinomycetes. I. The agglutination reaction. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 6, p. 721—735.
Smith C. H. Some observations on the effect of antibiotics on a strain of Escherichia coli. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 3, p. XVII.
Smith K. M. An introduction to the study of viruses. London, Pitman, 1950, X, 106 pp.
Smith K. M. Recent advances in the study of plant viruses. 2d ed., London, J. & A. Churchill, 1951, VIII, 300 pp.
Society for Applied Bacteriology: Annual general meeting. Nature, 1950, vol. 166, No. 42 30, p. 896—897.
Society for Applied Bacteriology. Annual general meeting. Nature, 1951, vol. 168, No. 4278, p. 730—732.
Stahman M. A. Hagedorn D. J. and Burger W. C. Electron micrography of the Wisckonsin pea streak virus. Phytopath., 1950, vol. 40, No. 1, p. 26.
Stapp C. Zur Frage der «Regeneration» von Chondriosomen zu Bakterien. Biolog. Zbl., 1951, Bd. 70, H. 9/10, S. 398—417.
Stempen H. Demonstration of the chromatinic bodies of Escherichia coli and Proteus vulgaris with the aid of the phase contrast microscope. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 1, p. 81—87.
Stempen H. and Hutchinson W. G. The formation and development of large bodies in Proteus vulgaris OX-19. I. Bright phase contrast observations of living bacteria. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 3, p. 321—335.
Stempen H. and Hutchinson W. G. The formation and development of large bodies in Proteus vulgaris OX-19. II. Comparative cytology of bacilli and large bodies. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 3, p. 337—344.
Stille B. Untersuchungen über den Kältetod von Mikroorganismen. Arch. Mikrobiol., 19, Bd. 14, H. 4, S. 554—587.
Subramanian M. K. Chromosomes in yeasts. Nature, 1951, vol. 168, No. 4271, p. 427—428.
Sugiyama H. Studies on factors affecting the heat resistance of spores of Clostridium botulinum. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 1, p. 81—96.
Tai T. Y. and Heyningen W. E. Bacteriolysis by a species of Streptomyces. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1, p. 110—120.
Tatum E. L. Effects of radiation on fungi. J. Cell. Comp. Physiol., 1950, vol. 35, Suppl. 1, p. 119—131.
Taylor A. W. Observations on the isolation of Mycobacterium johnei in primary culture. J. Pathol. Bacter., 1950, vol. 62, No. 4, p. 647—650.
Traub F. B., Huber W., Brasch A. and Friedemann U. Action of high intensity electrons on microorganisms. I. Inactivation of bacteria and viruses. Fed. Proc., 1951, vol. 10, No. 1, p. 422.
Tulasne R. Nouvelles observations sur les formes L des bactéries. Reproduction des formes L. Processus de réversion des formes L en formes bactériennes normales. C. R. Soc. Biolog., 1951, T. 145, No. 5/6, p. 429—432.
Tulasse R. Quelques données sur la biologie des bactéries. Comportement du noyau au cours de la division bactérienne. Production de formes submicroscopiques résistantes à la penicilline. Bull. Assoc. Diplômes Microbiol. Fac. Pharm., Nancy, 1950, vol. 38, p. 6—13.
Turner G. E. and Nelson F. E. Enumeration of lactic streptococcus bacteriophage by a twolayer plate method for plaques. J. Dairy Sci., 1951, vol. 34, No. 8, p. 754—762.

Visconti di Modrone N. Mécanisme de l'action léthale de la moutarde azotée (Ny) sur la bactérie Escherichia coli. Pubbl. Staz. Zool. Napoli, Suppl., 1950, vol. 22, p. 94—113.

Visconti di Modrone Borghi L. Variazioni strutturali della cromatina di Escherichia coli durante l'accrescimento della coltura. Bollet. Soc. Ital. Biol. Speriment., 1950, vol. 26, No. 5, p. 644—646.

Visconti di Modrone Borghi L. e Visconti di Modrone N. Analisi citologica d' batteri nelle varie fasi d'accrescimento. Chromosoma, 1951, Bd. 4, S. 393—403.

Visconti di Modrone Borghi L. e Visconti di Modrone N. Cytological analysis of bacteria in growing cultures. Exper., 1951, vol. 7, fasc. 2, p. 62—63.

Waksman S. A. The actinomycetes. Their nature, occurrence, activities, and importance. Waltham, Mass., Chronica Botanica, 1950, XVIII, 230 pp.

Waksman S. A., Harris D. and Lechevalier M. Studies on Streptomyces lavendulae. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 2, p. 149—161.

Wallhäuser K. H. Die antibiotischen Beziehungen einer natürlichen Mikroflora. Arch. Mikrobiol., 1951, Bd. 16, H. 3, S. 201—236.

Wallhäusser K. H. Untersuchungen über das antagonistische Verhalten von Mikroorganismen am natürlichen Standort. Arch. Mikrobiol., 1951, Bd. 16, H. 3, S. 237—257.

Warbasse W. W. and Johnson F. H. The influence of penicillin on large body production by luminous bacteria. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 3, p. 279—282.

Warner P. T. J. C. P. The iridescent phenomenon of Ps. pyocyanea. Brit. J. Exp. Pathol., 1950, vol. 31, No. 2, p. 242—257.

Watson J. D. The properties of X-ray-inactivated bacteriophage. I. Inactivation by direct effect. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 6, 697—718.

Watson J. H. L., Angulo J. J., Leon-Blanco F., Varela G. and Wedderburn C. C. Electron microscopic observations of flagellation in some species of the genus Treponema Shaudinn. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 4, p. 455—461.

Webb M. Gram staining reaction for micro-organism. Research, 1950, vol. 3, No. 3, 113—120.

Weilbull C. Electrophoretic and titrimetric measurements on bacterial flagella. Acta Chim. Scand., 1950, vol. 4, No. 2, p. 260—267.

Weibull C. Investigations on bacterial flagella. Acta Chim. Scand., 1950, vol. 4, No. 2, p. 268—276.

Weibull C. Movement of bacterial flagella. Nature, 1951, vol. 167, No. 4248, p. 511—512.

Weidel W. Neue Ergebnisse der Bakteriophagenforschung. Z. Vitamin-, Hormon- u. Fermentforsch., 1951, Bd. 4, H. 3/4, S. 377—395.

Weidel W. Über die Zellmembran von Escherichia coli B. Z. Naturforsch., 1951, Bd. 6, b, H. 5, S. 251—259.

Weigle J. J. and Delbrück M. Mutual exclusion between an infecting phage and a carried phage. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 3, p. 301—318.

Weiss D. and Waksman S. A. Strain specificity and production of antibiotic substances. IX. Bacteriostatic and bactericidal properties of neomycin and development of resistant strains. Proc. Nation. Ac. Sci., Washington, 1950, vol. 36, No. 5, p. 293—300.

Whitaker D. R. A note on the antibiotic activity of 40 species of woodrotting fungi. Canad. J. Botany, 1951, vol. 29, No. 3, p. 297.

White H. R. Variation with age in the resistance of bacterial cells, Nature, 1951, vol. 168, No. 4280, p. 828—829.

Wickerham L. J., Gill R. J. and Burton K. New concept in the phylogeny of yeasts as revealed by a study of the genus Hansenula Hansen. Proc. Soc. Amer. Bact., 1950, p. 36.

Wiley A. T., Dubey G. A., Lueck B. F. and Hughes L. P. Torula yeast growth on spent sulfite liquor. Indust. and Engineer. Chem., 1950, vol. 42, No. 9, p. 1830—1833.

Wilkins M. H. F., Stokes A. R., Seeds W. E. and Oster G. Tobacco mosaic virus crystals and three-dimensional microscopic vision. Nature, 1950, vol. 166, No. 4212, p. 127—129.

Williams O. B. and Harper O. F. Studies on heat resistance. IV. Sporulation of Bacillus cereus in some synthetic media and the heat resistance of the spores produced. J. Bacter., 1951, vol. 61, No, 5, p. 551—556.

Williams O. B. and Zimmerman C. H. Studies on heat resistance. III. The resistance of vegetative cells and spores of the same organism. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 1, p. 63—65.

Williams R. C. and Steere R. L. Electron microscopic observations on the unit of length of the particles of tobacco mosaic virus. J. Amer. Chem. Soc., 1951, vol. 73, No. 5, p. 2057—2061.

Williamson K. I. and Bertaud W. S. A new bacteriophage active against a lactic Streptococcus. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 5, p. 643—645.
Winkler A., Knoch M. und König H. Vergleichende licht- und elektronenmikroscopische Untersuchungen von Bakterien. Naturwissenschaften, 1951, Jg. 38, H. 11, S. 241—247.
Winogradsky H. Etude comparée des conditions écologiques et des conditions de laboratoire dans le cas des Thiorchodacées. Ann. Inst. Pasteur, 1951, T. 81, No. 4, p. 441—451.
Witkin E. M. Bacterial mutations involving resistance of destructive agents. Method in Medical Research, 1950, vol. 3, p. 23—36.
Woolley D. W. A study of non-competitive antagonism with chloromycetin and related analogues of phenylalanine. J. Biol. Chem., 1950, vol. 185, No. 1, p. 293—305.
Wyckhoff R. W. G. Filaments in cultures of bacteriophage. Exper., 1950, vol. 6, No. 2, p. 66—67.
Wyckoff R. W. G. Possible immature forms of bacteriophage. Exper., 1951, vol. 7, fasc. 8, p. 298—299.
Wyckoff W. G. Observations on developing bacteriophage. Science, 1951, vol. 113, No. 2939, p. 477.
Wyss O., Haas F., Clark J. B. and Stone W. S. Some effects of ultraviolet irradiation on microorganisms. J. Cell. a. Comp. Physiol., 1950, vol. 35, suppl. 1, p. 133—140.
Yamafuji K., Fujii S. und Akita T. Ueber die chemischen Prozesse bei der künstlichen Virus-Erzeugung im lebendigen Körper. Enzymologia, 1950, vol. 14, Fasc. 1, p. 24—29.
Yuill E. The numbers of nuclei in conidia of Aspergili. Transact. Brit. Mycolog. Soc., 1950, vol. 33, pt. 3/4, p. 324—331.
Zelle M. R. A simple single-cell technique for genetic studies of bacteria. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 3, p. 345—349.
Zentmyer G. A., Snyder W. C. and Hansen H. N. Use of natural media for inducing sporulation in fungi. Phytopath., 1950, vol. 40, No. 10, p. 971.
Zuccaro I. B., Powers J. J., Morse R. E. and Mills W. C. Thermal death times of yeast in oil and movement of the yeast between the oil and water phases of French dressing. Food Res., 1951, vol. 16, No. 1, p. 30—38.

б) Биохимия и физиология

Abelson P. H. and Aldous E. Ion antagonisms in microorgamisms: interference of normal magnesium metabolism by nickel, cobalt, cadmium, zinc, and manganese. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 4, p. 401—413.
Adams M. E., Butlin K. R., Hollands S. J. and Postgate J. R. The rôle of hydrogenase in the autotrophy of Desulphovibrio. Research, 1951, vol. 4, No. 5, p. 245—246.
Adelberg E. A. Studies on the isoleucine precursor α, β-dihydroxy-β-ethylbutyric acid. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 3, p. 365—373.
Adelberg E. A., Bonner D. M. and Tatum E. L. A precursor of isoleucine obtained from a mutant strain of Neurospora crassa. J. Biolog. Chemistry, 1951, vol. 190, No. 2, p. 837—841.
Adelberg E. A. and Tatum E. L. Characterization of a valine analog accumulated by a mutant strain of Neurospora crassa. Archives Biochemistry, 1950, vol. 29, No. 1, p. 235—236.
Agarwala S. C. and Peterson W. H. An improved method for determination of p-aminobenzoic acid by Neurospora crassa. Arch. Biochem., 1950, vol. 27, No. 2, p. 304—315.
Agarwala S. C. and Petersen W. H. Production of p-aminobenzoic acid by representative yeasts. Arch. Biochem., 1950, vol. 27, No. 2, p. 316—326.
Agarwala S. C. and Peterson W. H. Effect of changes in medium on p-aminobenzoic acid synthesis by certain yeasts. Arch. Biochem. 1950, vol. 27, No. 2, 327—340.
Ajl S. J. Metabolic studies on T2 Escherichia coli bacteriophage. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 4, 393—399.
Ajl S. J. Studies on the mechanism of acetate oxidation by bacteria. V. Evidence for the participation of fumarate, malate, and oxalacetate in the oxidation of acetic acid by Escherichia coli. J. Gen. Physiol., 1951, vol. 34, No. 6, p. 785—794.
Ajl S. J. Studies on the mechanism of acetate oxidation by bacteria. VI. Comparative patterns of acetate oxidation by citrate-grown and acetate-grown Aerobacter aerogenes. J. Gen. Physiol., 1951, vol. 35, No. 1, 119—127.
Ajl S. J. and Kamen M. D. Studies on the mechanism of acetate oxidation by Escherichia coli. J. Biol. Chem., 1951, vol. 189, No. 2, p. 845—857.
Ajl S. J., Kamen M. D., Ranson S. L. and Wong D. T. O. Studies on the mechanism of acetate oxidation by Micrococcus lysodeikticus. J. Biol. Chem., 1951, vol. 189, No. 2, p. 859—867.

Ajl S. J. and Wong D. T. O. Studies on the mechanism of acetate oxidation by bacteria. IV. Acetate oxidation by citrate-grown Aerobacter aerogenes studied with radioactive carbon. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 4, p. 379—387.

Aldous J. G., Fisher K. C. and Stern J. R. The respiration of yeast at different concentrations of glucose. J. Cell. and Comp. Physiol., 1950, vol. 35, No. 3, p. 303—315.

Allen E. K. and Allen O. N. Biochemical and symbiotic properties of the rhizobia. Bact. Rev., 1950, vol. 14, No. 4, p. 273—330.

Allen J. and Price W. H. The relation between respiration and protoplasmic flow in the slime mold, Physarum polycephalum. Amer. J. Bot., 1950, vol. 37, No. 5, p. 393—402.

Allfrey V. G. and King C. G. An investigation of the folic acid-protein complex in yeast. J. Biol. Chem., 1950, vol. 182, No. 1, p. 367—384.

Allison F. E. and Doetsch J. Attempts to demonstrate the production of nitrogen gas by rhizobia. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 1, p. 47—50.

Annear D. I. Mixed bacterial growth. III. Studies on the mixed growths of a viridans streptococcus, a diphtheroid and Staphylococcus albus. Austr. Exp. Biol., 1951, vol. 29, pt. 2, p. 93—99.

Antoniani C., Federico L. e Gobis L. Ricerche sul chimismo delle fermentazioni ossidative. II. Le attività iperossidative dell' Acetobacter aceti ed varj fattori d'influenza. Ann. Chim., 1950, vol. 40, p. 80—82.

Antoniani C., Federico L. and Gobis L. Richerche sul chimismo delle fermentazioni ossidative. III. Correlazioni tra l'ossidazione dell'acido acetico e la formazione di acido citrico da parte dell'Acetobacter aceti. Ann. Chim., 1950, vol. 40, p. 83—88.

Appleyard G. The metabolism of creatine by a pseudomonad. Biochem. J., 1951, vol. 49, No. 5, p. LXX.

Ashenburg N. J., Sandholzer L. A., Scherp H. W. and Berry G. P. The inhibition of bacteriophagy by bacterial and non-bacterial polysaccharides. J. Bacter., 1950, vol. 59, No. 5, p. 681—687.

Asnis R. E. and Gots J. S. Studies of the action of nitrofurans on bacterial enzyme systems. I. The inhibition of bacterial respiration by furacin. Arch. Biochem., 1951, vol. 30, No. 1, p. 25—34.

Asnis R. E. and Gots J. S. Studies on the action of nitrofurans on bacterial enzyme systems. II. Furacin as a hydrogen acceptor in anaerobic dissimilations by Micrococcus pyogenes var. aureus. Arch. Biochem., 1951, vol. 30, No. 1, p. 35—43.

Atkinson D. E. and Fox S. W. Synthesis of aromatic amino acids by mutant strains of Lactobacillus arabinosus. Arch. Biochem., 1951, vol. 31, No. 2, p. 212—223.

Atkinson D. E., Melvin S. and Fox S. Effects of *p*-fluorophenylalanine on the growth of Lactobacillus arabinosus. Arch. Biochem., 1951, vol. 31, No. 2, p. 205—211.

Aubert J.-P. Etude biochimique du rendement matériel de croissance d'une bactérie aérobie: Bacillus megatherium. Ann. Inst. Pasteur, 1951, T. 80, No. 6, p. 644—658.

Badcock C. G., Dean F. M., Robertson A. and Whalley W. B. The chemistry of fungi. X. The synthesis of 4-hydroxy-3-acetyl-coumarins. J. Chem. Soc., 1950, No. 3, p. 903—908.

Baddiley J., Ehrensvärd G., Johansson R., Reio L., Saluste E. and Stjernholm R. Acetic acid metabolism in Torulopsis utilis. I. The cultivation of Torulopsis yeast on $C^{13}H_3C^{14}OOH$ as the single carbon source. J. Biol. Chem., 1950, vol. 183, No. 2, p. 771—776.

Baddiley J., Ehrensvärd G., Klein E., Reio L. and Saluste E. Acetic acid metabolism in Torulopsis utilis. II. Metabolic connection between acetic acid and tyrosine and a method of degradation of the phenolic ring structure in tyrosine. J. Biol. Chem., 1950, vol. 183, No. 2, p. 777—788.

Bailey J. H. and Cavallito C. J. The effect of aliphatic acids on the activity of certain antibacterial agents. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 3, p. 269—274.

Baker F. Hamed N., Frank M. and Bruce J. Bacterial breakdown of structural starches and starch products in the digestive tract of ruminant and non-ruminant mammals. J. Pathol. Bact., 1950, vol. 62, No. 4, p. 617—638.

Balis M. E., Brown G. B., Elion G. B., Hitchings G. H. and Vanderwerff H. On the interconversion of purines by Lactobacillus casei. J. Biol. Chem., 1951, vol. 188, No. 1, p. 217—219.

Banhidi Z. G. and Euler H. Einfluss von Triose-Reduktion und Derivaten desselben auf Gärung und Wachstum von Hefen. Ark. Kemi, 1951, Bd. 3, Nr. 1, S. 89—95.

Barban S. and Ajl S. J. Interconversion of propionate and succinate by Propionibacterium pentosaceum. J. Biol. Chem., 1951, vol. 192, No. 1, p. 63—72.

Barker S. A. and Bourne E. J. The oligosaccharides synthesized by Escherichia coli from maltose. Biochem. J., 1951, vol. 49, No. 4, p. LXI.

Barker S. A., Bourne E. J. and Stacey M. The structure of the starch-type polysaccharide synthesized from sucrose by Neisseria perflava. J. Chem. Soc., 1950, No. 10, p. 2884—2887.
Barkulis T. L. Inhibition of the anaerobic pyruvate dissimilation in Escherichia coli by dihydrostreptomycin. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 3, p. 375—376.
Barron E. S. G., Ardao M. I. and Hearon M. The mechanism of acetate oxidation by Corynebacterium creatinovorans. Arch. Biochem., 1950, vol. 29, No. 1, p. 130—153.
Barry J. M., Banks M. G. and Koch A. L. Transfer of purines and pyrimidines from bacterial host to bacteriophage progeny. Federat. Proc., 1950, vol. 9, No. 1, pt. 1, p. 148—149.
Bartram H. Neue Erkenntnisse über die Lipoidbildung bei Mykobakterien. Zbl. Bakt. Parasitenk., 1950, Bd. 155, H. 8, S. 338—341.
Baskett A. C. and Hinshelwood C. The utilization of carbon sources by Bact. lactis aerogenes. I. General survey. Proc. Roy. Soc., Ser. B., 1950, vol. 136, No. 885, p. 520—535.
Baskett A. C. and Hinshelwood C. The utilization of carbon sources by Bact. lactis aerogenes. II. The significance of the tricarboxylic acid cycle. Proc. Roy. Soc., Ser. B., 1950, vol. 136, No. 885, p. 536—543.
Baskett A. C. and Hinshelwood C. Oxidation-reduction processes in cultures of bacteria. I. The reducing power of Bact. lactis aerogenes. Proc. Roy. Soc., Ser. B., 1950, vol. 137, No. 889, p. 524—534.
Baskett A. C. and Hinshelwood C. Oxidation-reduction processes in cultures of bacteria. II. Anaerobic growth of Bact. lactis aerogenes. Proc. Roy. Soc., Ser. B., 1951, vol. 138, No. 890, p. 75—87.
Baskett A. C. and Hinshelwood C. Oxidation-reduction processes in cultures of bacteria. III. The Pasteur effect with Bact. lactis aerogenes. Proc. Roy. Soc., Ser. B, 1951, vol. 138, No. 890, p. 88—97.
Batt R. D. and Woods D. D. The oxidation of thymine by an unidentified bacterium. Biochem. J., 1951, vol. 49, No. 5, p. LXX—LXXI.
Baumberger J. P. and Fales E. W. A transitory carbohydrate substance occurring in anaerobic assimilation of yeast cells. Federat. Proc., 1950, vol. 9, No. 1, pt. 1, p. 9.
Bealing F. J. and Bacon J. S. D. Sucrose breakdown by enzyme preparations from moulds. Biochem. J., 1951, vol. 49, No. 5, p. LXXV.
Ben-Ishai R., Volcani B. and Bergmann E. D. 4-amino-imidazole-5--carboxame precursor of the purines in E. coli. Arch. Biochem., 1951, vol. 32, No. 1, p. 229—230.
Ben-Ishai R., Volcani B. and Bergmann E. D. The synthesis of the purine nucleus by Escherichia coli, a study on the mode of action of sulfadrugs. Exper., 1951, vol. 7, fasc. 2, p. 63—64.
Bendz G. 6-methyl-1,4-naphthaquinone produced by Marasmius graminum. Acta Chim. Scand., 1950, vol., 5, No. 3, p. 489—490.
Bergström S. and Rasmussen K. On the growth requirements of lysineless mutants of Ophiostoma multiannulatum. Physiol. Plant., 1951, vol. 4, fasc. 2, p. 421—423.
Bernanose A. et Chevalier P. Sur une flavine de Torula. Bull. Soc. Chim. Biol., 1950, T. 32, No. 9/10, p. 835—837.
Bernhauer K., Irrgang K. u. Wiegner K. Ein Beitrag zur Penicillinbildung durch Penicillium-Arten. Zeitschr. Naturforschung, 1950, Bd. 5 b, H. 2, S. 103—116.
Bernheim F. The sarcosine oxidase in adapted and unadapted cultures of a strain of Pseudomonas aeruginosa. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 6, p. 767—770.
Bhide V. P. Utilisation of organic nitrogen by Corynebacterium michiganense (E. F. S.) Dowson and its possible bearing on parasitism. J. Indian Phytopath. Soc., 1949, vol. 2, No. 2, p. 173—175.
Bichowsky-Slomnitzki L. Inhibitory action of diamidines and stimulative effect of polyamines on enzymatic activities of Escherichia coli and Micrococcus aureus. Arch. Biochem., 1950, vol. 27, No. 2, p. 294—303.
Billen D. and Lichstein H. C. Nutritional requirements for hydrogenase production by Escherichia coli. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 3, p. 311—314.
Billen D. and Lichstein H. C. Nutritional reguirements for the production of formic hydrogenlyase, formic dehydrogenase and hydrogenase in Escherichia coli. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 4, p. 515—522.
Blanchard M. L., Korkes S., Campillo A. and Ochoa S. Function of biotin in the metabolism of Lactobacillus arabinosus. J. Biol. Chem., 1950, vol. 187, No. 2, p. 875—890.
Bloom W. L. Winters M. G. and Watson D. W. The inhibition of two antibacterial basic proteins by nucleic acids. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 1, p. 7—13.
Bolcato V., Scevola M. E. and Bussi G. C. Fixation of triosephosphates in Rhizopus nigricans metabolism with living cells. Naturwissenschaften, 1951, Jg. 38, H. 10, S. 236—237.

Bollenback G. N. and Underkofler L. A. The action of Acetobacter suboxydans upon ω-desoxy sugar alcohols. J. Amer. Chem. Soc., 1950, vol. 72, No. 2, p. 741—745.
Bolton E. T. Potassium compounds associated with carbohydrate metabolism of Escherichia coli. Federat. Proc., 1950, vol. 9, No. 1, pt. 1, p. 153—154.
Bonnet R. et Gayet J. Sur la formation des enzymes par les microorganismes. VI. Intervention des acides nucléiques. Bull. Soc. Chim. Biol., 1950, T. 52, No. 1/2, p. 89—93.
Borek E. and Waelsch H. The effect of temperature on the nutritional requirement of microorganisms. J. Biol. Chem., 1951, vol. 190, No. 1, p. 191—196.
Bottomley R. A., Christensen C. M. and Geddes W. F. The influence of various temperatures, humidities and oxygen concentrations on mold growth and biochemical changes in stored yellow corn. Grain storage studies. IX. Cereal Chemistry, 1950, vol. 27, No. 4, p. 271—296.
Boulanger P. and Osteux R. Dosage des formes D et L. de l'acide glutamique dans les protéines des tissus normaux et néoplasiques et dans les corps microbiens. Biochim. Biophys. Acta, 1950, T. 5, No. 3/4, p. 416—425.
Bowen V. T. and Rubinson A. C. Uptake of lantanum by a yeast. Nature, London, 1951, vol. 167, No. 4260, p. 1032.
Brakke M. K. and Nickel L. G. Secretion of α- amylase by Rumex virus tumors in vitro, properties and assay. Arch. Biochem., 1951, vol. 32, No. 1, p. 28—41.
Brandt C. L., Freeman P. J. and Swenson P. A. The effect of radiations on galactozymase formation in yeast. Science, 1951, vol. 113, No. 2936, p. 383—384.
Brechbühler T. Etude sur les acides nucléiques des bactéries. I. Teneurs des souches R et de Salmonella paratyphi A et de Shigella dysenteriae en acides pentose et désoxypentose-nucléiques au cours de leur croissance. Bull. Soc. Chim. Biol., 1950, T. 32, No. 11/12, p. 952—958.
Brisou J. and Babin R. Culture des bactéries anaérobies en présence de succinate de soude. J. Méd. Bordeaux, 1950, vol. 127, No. 9, p. 557.
Broquist H. P. and Snell E. E. Biotin and bacterial growth. I. Relation to aspartate, oleate and carbon dioxide. J. Biol. Chem., 1951, vol. 188, No. 1, p. 431—444.
Broquist H. P., Stokstad E. L. and Jukes T. H. Further observations on the microbiological assay for vitamin B_{12} using Lactobacillus leichmannii. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1951, vol. 76, No. 4, p. 806—811.
Brown A. L. A survey of nuclease production by streptococci. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 5, p. 673—675.
Brown G. M., Craig J. A. and Snell E. E. Relation of the Lactobacillus bulgaricus factor to pantothenic acid and coenzyme A. Arch. Biochem., 1950, vol. 27, No. 2, p. 473—475.
Brown G. M. and Snell E. E. Nature of multiple forms of the Lactobacillus bulgaricus factor (LBF). Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1951, vol. 77, No. 1, p. 138—140.
Buehler H. J., Katzman P. A. and Doisy E. A. Studies on β-glucuronidase from E. coli. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1951, vol. 76, No. 4, p. 672—676.
Burger W. C. and Stahmann M. A. Agglutination of virus particles and bacterial cells by synthetic polypeptides. Federat. Proc., 1951, vol. 10, No, 1, pt. 1, p. 168—169.
Burton M. O. and Lochhead A. G. Studies on the production of vitamin B_{12}-active substances by microorganisms. Canad. J. Botany, 1951, vol. 29, No. 4, p. 352—359.
Bush M. T. and Touster O. Isolation of β-nitropropionic acid from cultures of an Aspergillus flavus. Federat. Proc., 1950, vol. 9, No. 1, pt. 1, p. 261.
Bush M. T., Touster O. Brockman J. E. The production of β-nitropropionic acid by a strain of Aspergillus flavus. J. Biol. Chem., 1951, vol. 188, No. 2, p. 685—693.
Caldwell P. C. and Hinshelwood C. The nucleic acid content of Bacterium lactis aerogenes. J. Chem. Soc., 1950, No. 5, p. 1415—1418.
Caldwell P. C. and Hinshelwood C. Some considrations of autosynthesis in bacteria. J. Chem. Soc., 1950, No. 11, p. 3156—3159.
Caldwell P. C., Mackor E. L. and Hinshelwood C. The ribose nucleic acid content and cell growth of Bact. lactis aerogenes. J. Chem. Soc., 1950, No. 11, p. 3151—3155.
Califano L. Azione del calore sulla liberazione di acido nucleinico dai batterii. Atti Accad. Nazion. Lincei. 1950, vol. 9, fasc. 3/4, p. 142—149.
Camien M. N. and Dunn M. S. Antagonisms in the utilization of D-amino acids by lactic acid bacteria. I. Influence of DL-ethionine on the utilization of D-methionine. J. Biol. Chem., 1950, vol. 184, No. 1, p. 283—288.
Camien M. N. and Dunn M. S. Antagonisms in the utilization of D-amino acids by lactic acid bacteria. III. Influence of DL-methionine sulfone and oxidized

casein on the utilization of D-methionine. J. Biol. Chem., 1950, vol. 187, No. 1, p. 365—368.
Camien M. and Dunn M. S. Microbiological assay with Lactobacillus arabinosus after storage for three years lyophilized and in conservation medium. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1950, vol. 73, No. 1, p. 110—112.
Camien M. N. and Dunn M. S. The utilization of D-menthionine by Lactobacillus arabinosus 17-5. J. Biol. Chem., 1950, vol. 182, No. 1, p. 119—125.
Campbell J. J. R. and Norris F. C. The intermediate metabolism of Pseudomonas aeruginosa. IV. The absence of an Embden-Meyerhof system as evidenced by phosphorus distribution. Canad. J. Res., Sec. C, 1950, vol. 28, No. 2, p. 203—212.
Campbell J. J. R. and Stokes F. N. Tricarboxylic acid cycle in Pseudomonas aeruginosa. J. Biol. Chem., 1951, vol. 190, No. 2, p. 853—858.
Campbell L. L. and Williams O. B. The action of members of the genus Achromobacter on trimethylamine oxide and related compounds. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. i, p. 249—261.
Carlson W. W., Whiteside-Carlson V. and Kospetos K. Fatty acids as biotin substitutes for Leuconostoc. Federat. Proc., 1950, vol. 9, No. 1, pt. 1, p. 159.
Carroll T. C. N., Danby C. J., Eddy A. A. and Hinshelwood C. The uptake of alkali metals by bacteria. J. Chem. Soc., 1950, No. 3, p. 946—949.
Carson S. F., Mosbach E. H. and Phares E. F. Biosynthesis of citric acid. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 2, p. 235—238.
Cavallo G. Distribuzione della catalasi nel «Micrococcus lysodeicticus». Atti Accad. Nazion. Lincei, 1950, vol. 8, fasc. 4, p. 417—423.
Challenger F. and Cheng Liu Y. The elimination of methylthiol and dimethyl sulphide from methylthiol and dimethylsulphonium compound by moulds. Rec. Trav. Chim. Pays-Bas, 1950, vol. 69, No. 3, p. 334—342.
Charney J., Fischer W. P. and Hegarty C. D. Manganese as an essential element for sporulation in the genus Bacillus. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 2, p. 145—148.
Cheldelin V. H. and Nygaard A. P. Adaptations in growth factor requirements for lactic acid bacteria. J. Bacter., 1951, vol. 61, No, 4, p. 489—495.
Cheldelin V. H., Nygaard A. P., Kornberg H. A. and Williams R. J. Vitamin B_{12} phosphates, growth factors for Leuconostoc mesenteroides. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 1, p. 134—135.
Chester C. G. C. and Rolinson G. N. Zinc in the metabolism of a strain of Aspergillus niger. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 1, p. 553—558.
Chitre R. G., Sirny R. J. and Elvehjem C. A. Inhibition of Leuconostoc mesenteroides P-60 by D-tyrosine and its relationship with sodium and potassium content of the medium. Arch. Biochem. Biophys., 1951, vol. 31, No, 3, p. 398—405.
Christman J. F. and Lichstein H. C. The relationship of biotin to the coenzyme of certain amino acid deaminases. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 2, p. 107—112.
Christophersen J. und, Precht H. Über den Umkehrpunkt der Atmungskurven und die Fermentwirkungsmaxima bei Einwirkung steigender Temperaturen auf Hefen. Biol. Zbl., 1951, Bd. 70, H. 5/6, S. 261—274.
Chughtai M. I. D. and Walker T. K. The mechanism of the formation of organic acids by mould fungi. 5. The influence of arsenite on Aspergillus niger. Biochem. J., 1951, vol. 48, No. 5, p. 524—527.
Chung-Yu Lo. Estimation of urease activity by the use of microrespirometer and a comparison of the effect of pH on urea decomposition by urease and by cells of Proteus vulgaris. J. Exp. Biol., 1951, vol., 3, No. 2, p. 108—112.
Clapper W. E. and Heatherman M. E. Free glutamic acid content of viridans streptococci and some trained resistant strains. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1950, vol. 75, No. 2, p. 458—462.
Clark F. E. and Goring C. A. I. Growth of bacteria in the presence of radioactive phosphorus. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 3, p. 352—354.
Clemo G. R. and Daglish A. F. The phenazine series. VIII. The constitution of the pigment of Chromobacterium iodinum. J. Chem. Soc., 1950, No. 6, p. 1481—1485.
Cochrane V. W. The metabolism of species of Streptomyces. III. The nitrate metabolism of Streptomyces griseus. Bull. Torrey Bot. Club, 1950, vol. 77, No. 3, p. 176—180.
Cochrane V. W. and Conn J. E. The metabolism of species of Streptomyces. II. The nitrate metabolism of S. coelicolor. Bull. Torrey Bot. Club, 1950, vol. 77, No. 1, p. 10—18.
Cochrane V. W. and Gibbs M. The metabolism of species of Streptomyces. IV. The effect of substrate on the endogenous respiration of Streptomyces coelicolor. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 3, p. 305—307.

Cohen S. S. Biochemical studies on multiplication of bacterial viruses. Federat. Proc., 1951, vol. 10, No. 2, p. 585—590.

Cohen S. S. The synthesis of nucleic acid by virus-infected bacteria. Bact. Rev., 1951, vol. 15, No. 3, p. 131—146.

Cohen S. S. Utilization of gluconate and glucose in growing and virus-infected Escherichia coli. Nature, London, 1951, vol. 168, No. 4278, p. 746—747.

Cohen S. S. and Arbogast R. Chemical studies in host virus interaction. VII. A comparison of some properties of three mutant paire of bacterial viruses T2r$^+$ and T2r, T4r$^+$, T4r, T6r$^+$ and T6r. J. Exp. Med., 1950, vol. 91, No. 6, p. 619—636.

Cohen S. S. and Arbogast R. Chemical studies in host virus interactions. VIII. The mutual reactivation of T2r$^+$ virus inactivated by ultra-violet light and the synthesis of desoxyribose nucleic acid. J. Exp. Med., 1950, vol. 91, No. 6, 637—650.

Cohen S. S., McNair Scott D. B. and Lanning M. Pentose production and utilization by enzyme systems of Escherichia coli Federat. Proc., 1951, vol. 10, No. 1, pt. 1, p. 173.

Cohen-Bazire G. et Monod J. La compétition entre les ions hydrogène et sodium dans l'activation de la β-D-galactosidase d'Escherichia coli et la notion d'antagonisme ionique. C. R. Ac. Sci., Paris., 1951, T. 232, No. 16, p. 1515—1517.

Cohn M. et Monod J. Purification et properiétés de la β-galactosidase (lactase) d'Escherichia coli. Biochim. Biophys. Acta, 1951, vol. 7, No. 1, p. 153—174.

Cohn M. et Torriani A. M. Étude immunochimique de la biosynthèse adaptative d'un enzyme: la β-galactosidase (lactase) d'un Escherichia coli. C. R. Ac. Sci., Paris, 1951, T. 232, No 1, p. 115—117.

Collins E. B. Relation of different numbers of bacteriophage and bacteria to population changes and acid production. J. Dairy Sci., 1951, vol. 34, No. 9, p. 894—904.

Collins E. B., Nelson E. E. and Parmelee C. E. Acetate and oleate requirements of the lactic group of streptococci. J. Bacter., 1950, vol. 59, No. 1, p. 69—74.

Collins E. B., Nelson F. E. and Parmelee C. E. The relation of calcium and other constituents of a defined medium to proliferation of lactic Streptococcus bacteriophage. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 50, p. 533—542.

Cowie D. B., Bolton E. T. and Sands M. K. Sulfur metabolism in Escherichia coli. I. Sulfate metabolism of normal and mutant cells. J. Bacter., 1950, vol. 60, No, 3, p. 233—248.

Cowie D. B., Bolton E. T. and Sands M. K. Sulfur metabolism in Escherichia coli. II. Competitive utilization of labeled and non-labeled sulfur compounds. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 1, p. 63—74.

Craig J. A. and Snell E. E. The comparative activities of pantethine, pantothenic acid, and coenzyme A for various microorganisms. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 3, p. 283—291.

Crowley N. The degradation of starch by strains of group A streptococci having related antigens. J. Gen. Microbiol., 1950, vol. 4, No. 2, p. 156—170.

Crowley N. Polysaccharidases of group A streptococci. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 2, p. 239—249.

Csaky T. Z., Beard D., Dillon E. S. and Beard J. W. Chemical analysis of the T_7 bacteriophage of Escherichia coli. J. Biol. Chem., 1950, vol. 185, No. 1, p. 311—321.

Cuthbertson W. F. J. and Lloyd J. T. The assay of vitamin B_{12}. I. Factors affecting the response of Lactobacillus lactis Dorner ATCC8000 to vitamin B_{12}. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 2, p. 416—420.

Cutinelli C., Ehrensvärd G., Reio L., Saluste E. and Stjernholm R. Acetic acid metabolism in Escherichia coli. I. General features and the metabolic connection between acetate and glutamic acid, aspartic acid, glycine, alanine, valine, serine and thereonine. Acta Chim. Scand., 1951, vol. 5, No. 3, p. 353—371.

Cutinelli C., Ehrensvärd G. and Reio L. Acetic metabolism in Rhodospirillum rubrum under anaerobic condition. Ark. Kemi, 1950, vol. 2, No, 4, p. 357—361.

Cutts N. S. and Rainbow C. Methionine and the formation of pigment by yeasts. Nature, London, 1950, vol. 166, No. 4235, p. 1117.

Dagley S., Dawes E. A. and Morrison G. A. Production of amino acids in synthetic media by Escherichia coli and Aerobacter aerogenes. Nature, London, 1950, vol. 165, No. 4194, p. 437—438.

Dagley S., Dawes E. A. and Morrison G. A. Factors influencing the early phases of growth of Aerobacter aerogens. J. Gen. Microbiol., 1950, vol. 4, No. 3, 437—447.

Dagley S., Dawes E. A. and Morrison G. A. Inhibition of growth of Aerobacter aerogenes. The mode of action of phenols, alcohols, acetone and ethyl acetate. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 4, p. 369—379.

Dagley S., Dawes E. A. and Morrison G. A. The kinetics of pyruvate pro-

duction by Aerobacter aerogenes. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 3, p. 508—515.

Dagley S., Morrison G. A. and Dawes E. A. Acetate metabolism of Aerobacter aerogenes. Biochem. J., 1951, vol. 49, No. 5, p. LXXIX.

Dagley S., Morrison G. A. and Dawes E. A. The «Dicarboxylic acid cycle» in bacterial metabolism. Arch. Biochem., 1951, vol. 32, No. 1, p. 231—232.

Daniel E. E. Analysis of DL-norleucine inhibition in Achromobacter fischeri. Federat. Proc., 1950, vol. 9, No. 1, pt. 1, p. 266—267.

Daniel E. E. The reversal of norleucine inhibition in luminous bacteria. J. Cell. and Comp. Physiol., 1950, vol. 36, No. 1, p. 41—57.

David W. E. and Lichstein H. C. Aspartic acid decarboxylase in bacteria. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1950, vol. 73, No. 2, p. 216—218.

Davis B. D. *p*-Hydroxybenzoic a cid: a new bacterial vitamin. Nature, London, 1950, vol. 166, No. 4235, p. 1120—1121.

Davis B. D. Aromatic biosynthesis. III. Rôle of *p*-aminobenzoic acid in the formation of vitamin B_{12}. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 2, p. 221—230.

Davis B. D. and Mingioli E. S. Mutants of Escherichia coli requiring methionine or vitamin B_{12}. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 1, p. 17—28.

Davis D., Henderson L. M. and Powell D. The niacin-tryptophan relationship in the metabolism of Xanthomonas pruni. J. Biol. Chem. , 1951, vol. 189, No. 2, p. 543—549.

Davis R. L., Layton L. L. and Chow B. F. Uptake of radioactive vitamin B_{12} by bacteria in single and mixed cultures. Federat. Proc., 1951, vol. 10, No. 1, pt. 1, p. 380.

DeHaan P. G. and Winkler K. C. On the action of sulfanilamide. XIV. Growth of a para-aminobenzoic acid requiring E. coli without para-aminobenzoic acid. Antonie van Leeuwenhoek, 1951, vol. 17, No. 2, p. 107—118.

DeLey J. Cytochemical observations on nucleic acids and nucleoproteins in nitrogen deficient micro-organisms. Antonie van Leeuwenhoek, 1951, vol. 17, No. 1, p. 15—28.

DeLey J. and Cornut S. Direct oxidation of glucose by Aerobacter sp. Nature, London, 1951, vol. 168, No. 4273, p. 515—516.

Demolon A. et Rozowska R. Observations sur les produits d'excrétion du Bacterium Radicicola et leurs propriétés vitaminiques. C. R. Ac. Sci., Paris, 1951, T. 233, No. 3, p. 217—220.

DeRopp R. S. The ralative growth promoting action of indole-3-acetic acid and Agrobacterium tumefaciens. Amer. J. Botany, 1950, vol. 37, No. 5, p. 352—363.

DeSpain Smith L. and Douglas H. C. Factors necessary for maximum growth of Clostridium bifermentans. J. Bacter., 1950, vol. 60, No. 1, p. 9—15.

DeSpain Smith L. and Gardner M. V. The anomalous heat inactivation of Clostridium perfringens lecithinase. Arch. Biochem., 1950, vol. 25, No. 1, p. 54—60.

Diemair W. und Boresch C. Ein Beitrag zur biologischen Fettsynthese. Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch., 1950, Bd. 90, H. 1, S. 14—26.

Dimroth K. und Jaenicke L. Verschiedenartige zusammengesetzte Pentose-Nucleinsäuren der Hefe. Z. Naturforsch., 1950, Bd. 5 b, H. 4, S. 185—188.

Dion W. M. The proteolytic enzymes of microorganisms. I. Survey of fungi and actinomycetes for protease production in submerged culture. Canad. J. Res., Sec. C, 1950, vol. 28, No. 6, p. 577—585.

Dion W. M. The proteolytic enzymes of microorganisms. II. Factors affecting the production of proteases in submerged culture. Canad. J. Res., Sec. C., 1950, vol. 28, No. 6, p. 586—599.

DiVegni L. Modificazioni dell'acido ribonucleinico dei saccaromiceti in seguito a trattamento con benzopirene e colesterolo. Bollet. Soc. Ital. Biol. Speriment.,1950, vol. 26, No. 5, p. 819—821.

Doermann A. H. Interacellular phage growth as studied by premature lysis. Federat. Proc., 1951, vol. 10, No. 2, p. 591—594.

Dolin M. I. and Gunsalus I. C. Pyruvic acid metabolism. II. An acetoin-forming enzyme system in Streptococcus faecalis. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 2, p. 199—214.

Dreill W. Effect of 2,6-diaminopurine on purine metabolism in Neurospora. Federat. Proc., 1951, vol. 10, No. 1, pt. 1, p. 177—178.

Dumoff M. and Duffy C. E. Effect of sodium oleate on growth of Streptobacillus moniliformis. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 1951, vol. 77, No. 1, p. 1—3.

Dumoff M. and Duffy C. E. The substitution of starch, glycogen and dextrin for natural body fluids in the cultivation of Streptobacillus moniliformis. J. Bacter., 1951, vol. 61, No. 5, p. 535—539.

Dunn F. W. and Dittmer K. The synthesis and microbiological properties of some peptide analogues. J. Biol. Chem., 1951, vol. 188, No. 1, p. 263—272.

Eades C. H. Amino acid derivatives in bacterial metabolism. I. Derivatives of

leucine, phenylalanine, tryptophan and valine. J. Biol. Chem., 1950, vol. 187, No. 1, p. 147—152.
Eades C. H. Microbiological examination of mixtures of amino acid derivatives and amino acids. Federat. Proc., 1951, vol. 10, No. 1, pt. 1, p. 178.
Eades C. H., Jr., Microbiological response to amino derivatives. Federat. Proc., 1950, vol. 9, No. 1, pt. 1, p. 166—167.
Eddy A. A., Carroll T. C. N., Danby C. J. and Hinshelwood C. Alkali-metal ions in the metabolism of Bact. lactis aerogenes. I. Experiments on the uptake of radioactive potassium, rubidium and phosphorus. Proc. Roy. Soc., Ser. B, 1951, vol. 138, No, 891, p. 219—228.
Eddy A. A. and Hinshelwood C. The utilization of potassium by Bact. lactis aerogenes. Proc. Roy. Soc., Ser. B, 1950, vol. 136, No. 885, p. 544—562.
Eddy A. A. and Hinshelwood C. Alkali-metal ions in the metabolism of Bact. lactis aerogenes. II. Connexion with viability, growth rate and enzyme activity. Proc. Roy. Soc., Ser. B, 1951, vol. 138, No. 891, p. 228—237.
Eddy A. A. and Hinshelwood C. Alkali-metal ions in the metabolism of Bact. lactis aerogenes. III. General discussion on their rôle and mode of action. Proc. Roy. Soc., Ser. B, 1951, vol. 138, No. 891, p. 237—240.
Eddy B. P., Ingram M., and Mapson L. W. Bacterial reduction of dehydroascorbic acid. J. Gen. Microbiol., 1951, vol. 5, No. 3, p. XVI—XVII.
Edmonds M., Delluva A. M. and Wilson D. W. Metabolism of purines and pyrimidines in growing yeast. Federat. Proc., 1950, vol. 9, No. 1, pt, 1, p. 167.
Edson N. L. The intermediary metabolism of the Mycobacteria. Bact. Rev., 1951, vol. 15, No. 3, p. 147—182.
Ehrlich H. L. and Knight S. G. Glucose and lysogenesis in Bacillus megatherium. Nature, London, 1951, vol. 168, No. 4276, p. 658.
Eiduson S. Response of lactic acid bacteria to amino acid derivatives. I. Optically active and racemic forms of phenylalanine and phenyllactic acid. Arch. Biochem., 1950, vol. 29, No. 2, p. 302—320.
Elion G. B. u. Hitchings G. H. Antagonists of nucleic acid derivatives. IV. Reversal studies with 2-aminopurine and 2,6-diaminopurine. J. Biol. Chem., 1950, vol. 187, No. 3, p. 511—522.
Elion G. B. and Hitchings G. H. Inhibitory effects of 2,6-diaminopurine on growth of Lactobacillus casei. Federat. Proc., 1950, vol. 9, No. 1, pt. 1, p. 168.
Enesco M. Activité antimocrobienne de la 4,4'diamino-2,2'dihydroxydiphénylsulfone. C. R. Soc. Biol., 1951, T. 145, No. 9/10, p. 625—627.
Engelhard H. und Houtermans T. Über den Absterbevorgang bei Bakterien und Sporen unter der Einwirkung chemischer Agenzien. Z. Naturforsch., 1950, Bd. 5b, Nr. 1, S. 30—38.
Engelhard H. und Houtermans T. Über die Einwirkung von α-Strahlen und ultraviolettem Licht auf Bact. coli. Z. Naturforsch., 1950, Bd. 5 b, H. 5, S. 264—269.
Engelhard H. und Houtermans T. Über die Waschstumshemmung von Bakterien und Sporen. Zbl. Bakt. Parasitenk., 1950, Bd. 155, H. 2/4, S. 146—152.
Entner N. and Kirk P. L. Study of some enzyme systems by means of the differential microrespirometer, J. Gen. Physiol., 1951, vol. 34, No. 4, p. 431—437.
Entner N. and Stainer R. Y. Studies on the oxidation of glucose by Pseudomonas fluorescens. J. Bacter., 1951, vol. 62, No. 2, p. 181—186.
Ephrussi B. et Slonimski P. P. Le synthèse adaptive des cytochromes chez la levure de boulangerie. Biochim. Biophys. Acta, 1950, vol. 6, No, 2, p. 256—267.
Evans E. A., Putnam F. W. and Miller D. Utilization of host phosphorus in virus reproduction. Federat. Proc., 1951, vol. 10, No. 1, pt. 1, p. 181.
Evans E. E. and Mehl J. W. A qualitative analysis of capsular polysaccharides from Cryptococcus neoformans by filter paper chromatography. Science, 1951, vol. 114, No. 2949, p. 10—11.
Fabel K. and Hensler W. Über den Einfluss der Konzentration an Zucker, Stickstoff und Phosphor in Nährlösungen auf das Waschstum von Oidium lactis. Milchwissenschaft, 1950, Bd. 5, H. 6, S. 192—197.
Feldman L. I. and Gunslaus I. C. The occurrence of a wide variety of transaminases in bacteria. J. Biol. Chem., 1950, vol. 187, No. 2, p. 821—830.
Ferry R. M., Farr L. E., Rose J. and Blau M. R. A study of freshly generated bacterial aerosols of Micrococcus candidus and Escherichia coli. J. Infect. Diseases, 1951, vol. 88, No. 3, p. 256—271.
Fischer Ed. H. et Kohtes L. Purification de l'invertase de levure. Helvetica Chim. Acta, 1951, vol. 34, fasc. 4, p. 1123—1131.
Fischer Ed. H. and Montmollin R. Crystallization of the α-amylase of Aspergillus oryzae. Nature, London, 1951, vol. 168, No. 4275, p. 606—607.
Fischer Ed. H. et Montmollin R. Propriétés de l'α - amylase d'Aspergillus oryzae cristallisée. Sur les enzymes amylolytiques. XIX. Helvetica Chim. Acta, 1951, vol. 34, fasc. 6, p. 1994—1999.

(*Продолжение см. т. XXI, № 5*)

СОДЕРЖАНИЕ

От редакции 393

М. В. Федоров. Частичное отвлечение продуктов фиксации молекулярного азота из клеток азотобактера в питательную среду 395

З. Г. Разумовская и Т. З. Белоусова. Отношение к углекислоте уксуснокислых бактерий скорого способа производства 403

А. А. Ворошилова и Е. В. Дианова. Окисляющие нефть бактерии—показатели интенсивности биологического окисления нефти в природных условиях 408

Е. Ф. Березова и Е. Х. Ремпе. Методика исследования клубеньковых бактерий в корневой системе бобовых растений 416

А. А. Корнилов и В. В. Вертелецкая. Продвижение эспарцета в засушливые степные районы и роль клубеньковых бактерий 423

И. Л. Работнова, В. К. Егорова, Г. К. Озолина и И. К. Елецкий. О некоторых особенностях физиологии Cl Pasteurianum 429

Г. С. Китавин. Стимуляция дыхания и биосинтеза B_2 у Asp. niger при действии на него ядовитых веществ. 438

Т. Т. Ованесян. Некоторые биологические особенности возбудителя мускардины тутового шелкопряда в Грузинской ССР 445

К. В. Косиков. Новый метод выделения отдельных клеток микроорганизмов 449

А. П. Ордин. Получение односпоровых культур пенициллов с помощью сухой иглы 453

В. М. Богданов. О связи науки с производством 455

В. Л. Рыжков. Систематика вирусов в современной литературе 458

С. И. Кузнецов. Замечания к статье „Метод получения мембранных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных клеток" Е. А. Рукиной и В. И. Бирюзовой 477

А. С. Разумов. Замечания к статье „Метод получения мембраных ультрафильтров для прямого счета, свободных от микробных клеток" Е. А. Рукиной и В. И. Бирюзовой 478

М. Г. Крицман Современные представления об адаптивных ферментах . . . 480

Г. М. Вайндрах и Я. И. Шерман. Из истории вирусологии. Полемика Д. И. Ивановского с М. В. Бейеринком 495

Критика и библиография 498

Т-06506 Подписано к печати 24/VII 1952 Печ. л. 10,96+1 вклейка
Уч.-изд. л. 13,6 Формат бум. 70×108¹/₁₆. Бум. л. 4 Тираж 5750 экз. Заказ 407

2-я типография Издательства Академии Наук СССР. Москва, Шубинский пер., 10

Цена 12 руб.

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

Статьи, представляемые в редакцию, должны быть тщательно отредактированы в рукописи. Сообщаемые в статье результаты экспериментальных исследований должны быть изложены кратко и ясно, а в конце статьи должны быть выводы. Никакие исправления в корректуре против рукописи не допускаются.

Рукопись, в том числе и литература, должна быть четко переписана на машинке на одной стороне листа писчей бумаги с двумя интервалами. Объем представляемых работ, включая таблицы и литературу, не должен превышать 14—15 страниц, перепечатанных на машинке. С левой стороны листа должны быть оставлены чистые поля (3—4 см). В редакцию посылается первый, перепечатанный на машинке, экземпляр. Страницы рукописи должны быть перенумерованы единой нумерацией, включая основной текст, таблицы, литературу и т. д. Обозначение за одним номером нескольких страниц (например 21а, 21б) не допускается. В конце рукописи, обязательно должны быть собственноручная подпись автора, название учреждения, где выполнена работа, и точный его адрес.

Таблицы должны находиться в соответствующих местах рукописи и в тексте на них должны быть ссылки. Подзаголовки таблиц должны быть краткими, но их необходимо писать полностью, без сокращений.

Количество иллюстраций должно быть минимальным, они должны быть совершенно отчетливыми и выполнены тушью на белой бумаге или на кальке. На полях рукописи указывается место рисунка, а в тексте на него дается ссылка. Фотографии печатаются только при абсолютной их необходимости, причем они должны быть контрастными и в черных тонах. На микрофотографиях должно быть указано увеличение, при котором произведен снимок.

На обороте каждого рисунка должны быть написаны простым карандашом: фамилия автора, заглавие статьи, номер рисунка и страница рукописи, к которой он относится. Подписи к иллюстрациям даются на особом листе с указанием номеров рисунков.

Статья должна содержать результаты собственных исследований автора и поэтому в ней разрешается приводить только очень краткие ссылки на литературу.

Приводить названия цитируемых работ в тексте статьи или в сносках нельзя. Вся литература должна быть сведена в особый список, помещаемый в конце статьи. Перечень литературы приводится в алфавитном порядке авторов и нумеруется; для русских и иностранных работ составляются самостоятельные алфавитные списки. Ссылаться на неопубликованные в печати работы и устные сообщения не разрешается.

Отдельные работы одного и того же автора располагаются в хронологической последовательности; в случае наличия у автора нескольких работ, изданных в одном году, они нумеруются строчными буквами алфавита (напр. 1927a; 1927b, 1927c).

В списках литературы должны даваться следующие данные: а) фамилия, б) инициалы, в) название работы, г) сокращенное общепринятое название журнала (для книги — место издания), д) том, страница и год.

Фамилии иностранных авторов при цитировании в статье в первый раз даются как на русском, так и на иностранном языке, а при дальнейших ссылках только на русском языке. Одновременно с фамилией цитируемого автора в скобках указывается его порядковый номер по списку литературы. Помещение в списке литературы всех цитируемых в статье работ — обязательно. Приводить в списке литературы работы, не упоминаемые в тексте, не разрешается.

Сокращение слов, имен, названий, как правило, не допускается. Разрешаются лишь общепринятые сокращения — различных мер, физических, химических и математических величин и терминов и т. п. Все меры должны даваться в метрической системе, а температура по шкале Цельсия.

Рукописи, оформленные без соблюдения настоящей инструкции, будут возвращаться авторам для исправления.

Если автор в связи с вносимыми исправлениями задержит рукопись свыше одного месяца, статья будет считаться в дальнейшем как поступившая вновь.

Редакция